

**PTERIDINMUSTER UND - KONZENTRATIONEN
IN VERSCHIEDENEN ORGANEN DES HUNDES
UND DEREN VERÄNDERUNG BEI
ORGANSCHÄDEN UND NEOPLASIEN**

LUDWIG J. SINGER

1988

Disbui. München
1988



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. M. Merckenschlager

**PTERIDINMUSTER UND -KONZENTRATIONEN IN VERSCHIEDENEN ORGANEN
DES HUNDES UND DEREN VERÄNDERUNG BEI
ORGANSCHÄDEN UND NEOPLASIEN**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Ludwig J. Singer
aus
München

München 1988

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Prof. Dr. M. Merckenschlager

Korreferent Prof. Dr. B. Vollmerhaus

Tag der Promotion: 29. Juli 1988

1.	Einleitung	1
2.	Die Entwicklung der Kunst	2
3.	Die Kunst der Antike	3
4.	Die Kunst des Mittelalters	4
5.	Die Kunst der Renaissance	5
6.	Die Kunst des Barock	6
7.	Die Kunst des 18. Jahrhunderts	7
8.	Die Kunst des 19. Jahrhunderts	8
9.	Die Kunst des 20. Jahrhunderts	9
10.	Die Kunst der Zukunft	10
11.	Die Kunst der Gegenwart	11
12.	Die Kunst der Zukunft	12
13.	Die Kunst der Gegenwart	13
14.	Die Kunst der Zukunft	14
15.	Die Kunst der Gegenwart	15
16.	Die Kunst der Zukunft	16
17.	Die Kunst der Gegenwart	17
18.	Die Kunst der Zukunft	18
19.	Die Kunst der Gegenwart	19
20.	Die Kunst der Zukunft	20
21.	Die Kunst der Gegenwart	21
22.	Die Kunst der Zukunft	22
23.	Die Kunst der Gegenwart	23
24.	Die Kunst der Zukunft	24
25.	Die Kunst der Gegenwart	25
26.	Die Kunst der Zukunft	26
27.	Die Kunst der Gegenwart	27
28.	Die Kunst der Zukunft	28
29.	Die Kunst der Gegenwart	29
30.	Die Kunst der Zukunft	30
31.	Die Kunst der Gegenwart	31
32.	Die Kunst der Zukunft	32
33.	Die Kunst der Gegenwart	33
34.	Die Kunst der Zukunft	34
35.	Die Kunst der Gegenwart	35
36.	Die Kunst der Zukunft	36
37.	Die Kunst der Gegenwart	37
38.	Die Kunst der Zukunft	38
39.	Die Kunst der Gegenwart	39
40.	Die Kunst der Zukunft	40
41.	Die Kunst der Gegenwart	41
42.	Die Kunst der Zukunft	42
43.	Die Kunst der Gegenwart	43
44.	Die Kunst der Zukunft	44
45.	Die Kunst der Gegenwart	45
46.	Die Kunst der Zukunft	46
47.	Die Kunst der Gegenwart	47
48.	Die Kunst der Zukunft	48
49.	Die Kunst der Gegenwart	49
50.	Die Kunst der Zukunft	50
51.	Die Kunst der Gegenwart	51
52.	Die Kunst der Zukunft	52
53.	Die Kunst der Gegenwart	53
54.	Die Kunst der Zukunft	54
55.	Die Kunst der Gegenwart	55
56.	Die Kunst der Zukunft	56
57.	Die Kunst der Gegenwart	57
58.	Die Kunst der Zukunft	58
59.	Die Kunst der Gegenwart	59
60.	Die Kunst der Zukunft	60
61.	Die Kunst der Gegenwart	61
62.	Die Kunst der Zukunft	62
63.	Die Kunst der Gegenwart	63
64.	Die Kunst der Zukunft	64
65.	Die Kunst der Gegenwart	65
66.	Die Kunst der Zukunft	66
67.	Die Kunst der Gegenwart	67
68.	Die Kunst der Zukunft	68
69.	Die Kunst der Gegenwart	69
70.	Die Kunst der Zukunft	70
71.	Die Kunst der Gegenwart	71
72.	Die Kunst der Zukunft	72
73.	Die Kunst der Gegenwart	73
74.	Die Kunst der Zukunft	74
75.	Die Kunst der Gegenwart	75
76.	Die Kunst der Zukunft	76
77.	Die Kunst der Gegenwart	77
78.	Die Kunst der Zukunft	78
79.	Die Kunst der Gegenwart	79
80.	Die Kunst der Zukunft	80
81.	Die Kunst der Gegenwart	81
82.	Die Kunst der Zukunft	82
83.	Die Kunst der Gegenwart	83
84.	Die Kunst der Zukunft	84
85.	Die Kunst der Gegenwart	85
86.	Die Kunst der Zukunft	86
87.	Die Kunst der Gegenwart	87
88.	Die Kunst der Zukunft	88
89.	Die Kunst der Gegenwart	89
90.	Die Kunst der Zukunft	90
91.	Die Kunst der Gegenwart	91
92.	Die Kunst der Zukunft	92
93.	Die Kunst der Gegenwart	93
94.	Die Kunst der Zukunft	94
95.	Die Kunst der Gegenwart	95
96.	Die Kunst der Zukunft	96
97.	Die Kunst der Gegenwart	97
98.	Die Kunst der Zukunft	98
99.	Die Kunst der Gegenwart	99
100.	Die Kunst der Zukunft	100

INHALTSÜBERSICHT

Seite

1.	EINLEITUNG	1
2.	LITERATURÜBERSICHT	2
2.1.	Geschichte und Nomenklatur der Pteridine	2
2.2.	Chemische und physikalische Eigenschaften	3
2.3.	Stoffwechsel der Pteridine	5
2.3.1.	Biosynthese der Pteridine	5
2.3.2.	Katabolismus der Pteridine	6
2.3.3.	Regulation der Pteridinsynthese	7
2.4.	Quantifizierung der Pteridine	8
2.5.	Vorkommen der Pteridine	9
2.5.1.	In der Natur	9
2.5.2.	Hühnerembryo	10
2.5.3.	Mensch und Säugetier	11
2.6.	Bedeutung der Pteridine für Funktionen und Dysfunktionen bei Mensch und Säugetier	14
2.6.1.	Entwicklung und Wachstum	14
2.6.2.	Kofaktorfunktion der Pteridine	15
2.6.3.	Pteridine bei Belastung	16
2.7.	Pteridine in Verbindung mit Immunreaktionen	17
2.8.	Pteridine in Verbindung mit Tumoren	18
2.8.1.	Mensch	18
2.8.2.	Tier	19
2.9.	Neoplasien	20
2.9.1.	Definition und Vorkommen	20
2.9.2.	Einteilung der Tumoren	21
2.9.3.	Tumorimmunologie	22
2.9.3.1.	Gewebsreaktionen der Tumoren	23
2.9.4.	Tumormarker im Serum	24
2.10.	Neoplasien beim Hund	25
2.10.1.	Mammatumoren	25
2.10.2.	Hodentumoren	25
2.10.3.	Milztumoren	26
2.10.4.	Perianaltumoren	27
2.10.5.	Lipome	27

2.10.6.	Mastzellentumoren	27
2.10.7.	Maligne Melanome	28
2.10.8.	Osteosarkome	28
2.11.	Nieren- und Leberbeschallungen	29
2.12.	Problemstellung	30
3.	MATERIAL UND METHODIK	31
3.1.	Material	31
3.1.1.	Klinisch gesunde Tiere	31
3.1.2.	Hunde mit Stoßwellenbeschallung	31
3.1.3.	Hunde mit Neoplasien	33
3.1.4.	Materialgewinnung	34
3.1.4.1.	Harn	34
3.1.4.2.	Kontrollgewebe	34
3.1.4.3.	Tumor und "peripheres Gewebe"	35
3.1.5.	Materiallagerung	36
3.1.5.1.	Harnlagerung	36
3.1.5.2.	Gewebelagerung	36
3.2.	Methodik	37
3.2.1.	Aufarbeitung der Urinproben (modifiziert nach FUKUSHIMA und NIXON, 1980 und STEA et al., 1980)	37
3.2.2.	Aufarbeitung der Organ- und Tumorproben	39
3.2.3.	Reversed-phase Hochdruckflüssigkeitschromatographie	39
3.2.4.	Creatininbestimmung im Urin	41
3.2.5.	Trockengewichtsbestimmung	42
3.2.6.	Statistische Berechnungen	42
4.	ERGEBNISSE	43
4.1.	Pteridine im Harn gesunder Hunde	43
4.2.	Pteridine im Harn von Hunden nach Nieren- bzw. Leberbeschallung	43
4.3.	Plasmauntersuchungen von Hunden nach Nieren- bzw. Leberbeschallung	49
4.4.	Pteridine im Harn von tumorerkrankten Hunden	50
4.5.	Pteridine in Organen gesunder Hunde	50
4.5.1.	Mammadrüsengewebe	51

4.5.2.	Hoden	51
4.5.3.	Milz	52
4.5.4.	Leber	52
4.5.5.	Nierenrinde	52
4.5.6.	Lunge	53
4.5.7.	Zungenmuskulatur	53
4.6.	Pteridinkonzentrationen in Tumoren und Tumorperipherie	56
4.6.1.	Mammatumoren	56
4.6.2.	Hodentumoren	60
4.6.3.	Milztumoren	63
4.6.4.	Melanome	65
4.6.5.	Perianaltumoren	66
4.6.6.	Lipome	67
4.6.7.	Osteosarkome	67
4.6.8.	Mastzellentumoren	68
4.6.9.	Pteridine im Überblick	69
5.	DISKUSSION	71
5.1.	Gründe für Veränderungen von Pteridinkonzentra- tionen im Gewebe	71
5.2.	Pteridine in Organen gesunder Hunde	73
5.3.	Pteridine bei verschiedenen Neoplasien	75
5.3.1.	Mammatumoren	76
5.3.2.	Hodentumoren	77
5.3.3.	Milztumoren	77
5.3.4.	Melanome	78
5.3.5.	Perianal-, Mastzellentumoren, Lipome, Osteosarkome	79
5.4.	Erhöhte Harnpteridinwerte nach Stoßwellen- einwirkungen auf Niere und Leber	79
5.5.	Schlußbemerkung	81
6.	ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY	82
7.	LITERATURVERZEICHNIS	84

1. EINLEITUNG

Schon seit vielen Jahren wird intensiv nach Substanzen gesucht, die bei Neoplasien vor den ersten klinischen Symptomen im Serum oder Urin erscheinen und zur Diagnose und Klassifizierung eines bösartigen Tumors beitragen. Diese Hoffnung hat sich bisher noch nicht erfüllt, obwohl schon einige der vielen in der Literatur beschriebenen Tumormarker einen begrenzten diagnostischen Wert haben, insbesondere bei der Verlaufskontrolle während und nach der Behandlung.

Nachdem nun in der Human- und Tiermedizin in neuerer Zeit im Harn und Serum von Tumorpatienten ein erhöhter Gehalt an unkonjugierten Pteridinen entdeckt wurde, konzentrierte sich die Pteridinforschung primär auf das Tumor- und Immungeschehen. Trotz intensiven Untersuchungen bleibt nach wie vor ungeklärt, wodurch dieser Anstieg der Pteridine in den Körperflüssigkeiten bedingt ist.

Ziel dieser Arbeit war es nun, durch qualitative und quantitative Bestimmung das Vorkommen der Pteridine in verschiedenen Organen zu ermitteln und aufzuzeigen, ob sich bei Neoplasien und mechanischen Organschäden die Pteridinmuster und -konzentrationen nicht nur im Urin, sondern auch in den Organen bzw. im Tumorgewebe selbst verändern.



2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Geschichte und Nomenklatur der Pteridine

Das Interesse an den natürlich vorkommenden Pteridinen kann bis zu Friedrich G. Hopkins und seinen Studien über die Flügelfarbstoffe zurückverfolgt werden (HOPKINS, 1889, 1891). Gegen Ende des letzten Jahrhunderts isolierte er ein kristallines Pigment, das er aus den Flügeln des Zitronenfalters gewonnen hatte. Sechs Jahre später konnte er auch einen weißen Farbstoff aus den Flügeln des Kohlweißlings isolieren (HOPKINS, 1895). WIELAND und SCHÖPF (1925, 1926) gelang es dann, diese Pigmente weiter zu reinigen. Sie benannten die Verbindungen Xanthopterin und Leukopterin ("xanthos" gelb, "leukos" weiß und "pteron" Flügel).

Erst 1940 gelang PURRMANN die chemische Synthese und damit die Strukturaufklärung von Leukopterin, Xanthopterin und Isoxanthopterin, einem weiteren Insektenpterin (PURRMANN, 1940a, 1940b, 1941).

Der Begriff "Pteridin" zur Beschreibung des heterozyklischen Ringes (Pyrimido-[4,5-b]-pyrazin) in diesen Pigmentstoffen wurde als erstes von WIELAND eingeführt (WIELAND und SCHÖPF, 1925; SCHÖPF und REICHERT, 1941). Anfänglich benutzte man den Begriff "Pterin" zur Charakterisierung der Insektenfarbstoffe allein (WIELAND und SCHÖPF, 1925; SCHÖPF und BECKER, 1936). Erst PFLEIDERER schlug vor, den Begriff "Pterin" auf alle Derivate des 2-Amino-4-oxopterinidins zu beschränken (PFLEIDERER, 1964). Die meisten der natürlich vorkommenden Pteridine sind Pterine mit Substitutionen an den Positionen 6, 7 oder 8 des Pteridinringes.

Die Pteridine können in konjugierte und unkonjugierte Pteridine unterteilt werden. Konjugierte Pteridine gehören zur Gruppe der Folsäure und leiten sich von der Pteroinsäure ab.

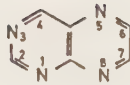
Unkonjugierte Pteridine (Abb. 1) dagegen enthalten weder Glutamatderivate noch p-Aminobenzoatsubstituenten. Bei den in dieser Arbeit aufgeführten Pteridinen handelt es sich stets um unkonjugierte Pteridine, wobei die nachfolgend beschriebenen Untersuchungen auf Neopterin, Biopterin, 6-Hydroxymethylpterin, Pterin und Isoxanthopterin beschränkt bleiben. Diese Pteridine treten bei Mensch und Tier in Geweben und Harn in verschiedenen Konzentrationen auf und sind der Fluoreszenzdetektion zugänglich. Sie sind seit einigen Jahren sowohl in der Humanmedizin als auch in der Veterinärmedizin Gegenstand intensiver Forschungen vor allem auf den Gebieten der Immunologie und der Onkologie.

2.2. Chemische und physikalische Eigenschaften der Pteridine

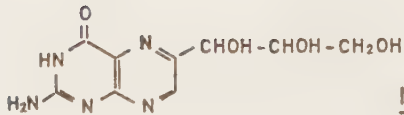
Die Pteridine sind amphotere Substanzen, woraus sich ihre geringe Löslichkeit in Wasser und den meisten organischen Lösungsmitteln ableitet. In ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften gleichen sie weitgehend den strukturell ähnlichen Purinen.

Pteridine kommen in den Organismen höherer Vertebraten in drei verschiedenen Oxidationsstufen vor, nämlich in der Tetrahydro-, Dihydro- und in der volloxydierten Form, wobei die Tetrahydroform am häufigsten auftritt (Kurzschreibweise H_4 -Pteridine). Pteridine besitzen charakteristische UV-Spektren, wobei die oxidierten aromatischen Pteridinderivate intensiv blau bis rot fluoreszieren.

Pteridine bilden Metallchelate sowie schwerlösliche Quecksilber- und Silbersalze. Sie neigen zur Komplexbildung mit Peptiden, Proteinen und Nukleinsäuren (TSAJITA und SAKURAI, 1963; LAGOWSKI und FORREST, 1967). Zu erwähnen ist auch die Photolabilität der Tetra- und Dihydroformen und deren Oxidationsempfindlichkeit gegenüber Luftsauerstoff. Außerdem neigen Pteridine zu Oberflächenadhäsionen, beispielsweise an Glas.

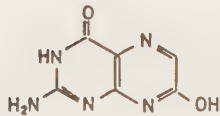
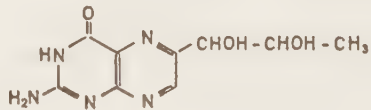


Pteridine

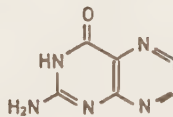


Neopterin

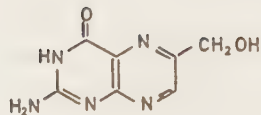
Biopterin



Isoxanthopterin



Pterin



6-Hydroxymethylpterin

Abb. 1: Chemische Struktur unkonjugierter Pteridine

2.3. Stoffwechsel der Pteridine

2.3.1. Biosynthese der Pteridine

Wegen der strukturellen Ähnlichkeit mit den Purinen versuchte man schon länger den Beweis dafür zu erbringen, daß die Purine Vorstufen der Pteridinbiosynthese sind. Die ersten Hinweise hierfür erbrachte ALBERT (1954). Er zeigte, daß nach Inkubation von Purinen mit Dicarbonylverbindungen bei 37°C geringe Pteridinemengen entstehen. Durch die Isolierung der Guanosintriphosphat-Cyclohydrolase I (GTP-CH I) aus *E. coli* erbrachte BROWN (1971) den direkten Beweis dafür, daß Guanosintriphosphat (GTP) den direkten Precursor der Pteridine darstellt, da die GTP-CH I direkt Guanosintriphosphat (GTP) zu Dihydroneopterintriphosphat (H_2NP -PPP) umwandelt. H_2NP -PPP gilt generell als Ausgangspunkt des Pteridin- und Folsäurestoffwechsels (BROWN, 1971; MILSTIEN and KAUFMAN, 1986).

Durch die 6-Pyruvoyl- H_4 -Pterin-Synthetase werden bei Anwesenheit von Mg^{2+} die Phosphatgruppen vom H_2NP -PPP abgespalten, und es entsteht H_4 -Pterin 1 (6-Pyruvoyl- H_4 -Pterin). Zur Synthese von Tetrahydrobiopterin sind nun zwei Ketoreduktasen beteiligt. Durch die 6-Pyruvoyl- H_4 -Pterin-Reduktase und die Sepiapterinreduktase kommt es entweder über H_4 -Pterin 2 oder über reduziertes Sepiapterin (6-Lactoyl- H_4 -Pterin) unter Beteiligung von NADPH zur Bildung von Tetrahydrobiopterin (H_4 -BP) (SMITH et al., 1986). Dieser Weg wird als de novo-pathway bezeichnet und dominiert unter normalen Stoffwechselbedingungen (CURTIUS et al., 1985; MILSTIEN und KAUFMAN, 1986).

Bereits vor der Entdeckung des H_4 -Pterin-Synthesewegs war der H_2 -Syntheseweg (Dihydropterin-pathway oder salvage-pathway) bekannt (FUKUSHIMA et al., 1975). Durch Oxidation von reduziertem Sepiapterin entsteht Sepiapterin, welches durch

die Sepiapterinreduktase in H_2 -Biopterin umgewandelt wird. Dieses H_2 -Biopterin wird daraufhin durch die Dihydrofolatreduktase (DHFR) weiter zu H_4 -Biopterin reduziert.

DUTCH et al. (1983) haben jedoch festgestellt, daß bei einer Hemmung der Dihydrofolatreduktase und der Dihydropterinreduktase durch das Cytostatikum Methotrexat die H_4 -Biopterin-Synthese nicht beeinträchtigt wird. Zur Regeneration von Tetrahydrobiopterin aus quinoidem Dihydrobiopterin ist die Dihydropterinreduktase nötig (CRAINE et al., 1972). Hieraus schloß man, daß dieser salvage-pathway für die Biosynthese des H_4 -Biopterins nicht essentiell sein kann (MILSTIEN and KAUFMAN, 1986).

Während über die de novo-Synthese von H_4 -Biopterin viele Untersuchungen vorliegen und die meisten Syntheseschritte geklärt sind, ist die Biosynthese von Neopterin, 6-Hydroxymethylpterin, Pterin und Isoxanthopterin noch Inhalt intensiver Forschung.

Der Ursprung von Neopterin und 6-Hydroxymethylpterin ist noch nicht endgültig geklärt. Neopterin soll durch Dephosphorylierung aus H_2 -NP-PPP entstehen (FUKUSHIMA et al., 1975). Durch Abspaltung der Seitenkette kann aus H_2 -Neopterin H_2 -Pterin gebildet werden. Pterin und eine Reihe anderer Pteridine können im Gegensatz zu Biopterin auch aus Folsäure gebildet werden (FUKUSHIMA und SHIOTA, 1974). Die Bildung von 6-Hydroxymethylpterin aus Folat wurde allerdings nur für maligne Zellen beschrieben (STEA et al., 1978).

2.3.2. Katabolismus der Pteridine

Über den Abbau von Pteridinen im Organismus liegen etwas mehr Kenntnisse vor als über deren Synthese. In einer Reihe von Untersuchungen haben REMBOLD et al. (1969 a, b,; 1971 a, b) und REMBOLD und GYRE (1972) gezeigt, daß sich der Abbau

von H_4 -Biopterin und H_4 -Neopterin in ähnlicher Weise vollzieht und zu einfachen Lumazinen oder Pteridinen, wie Isoxanthopterin und Pterin, führt. Abhängig von der Beteiligung der Desaminase am Abbau der Pteridine, endet der Pteridinkatabolismus auf der Stufe einfacher Lumazine oder Pteridine. Von den sehr substratspezifischen Desaminasen sind bisher eine Pterindesaminase, eine Sepiapterindesaminase und eine Isoxanthopterindesaminase entdeckt worden. Pterin und Lumazin stellen gleichwertige Substrate für die Xanthinoxidase (XOD) und Xanthindehydrogenase (XDH) dar und werden von diesen Enzymen an der C-7 Position hydroxyliert (BERGMANN und KWIETNY, 1959).

In diesem Zusammenhang fanden FORREST et al. (1956) bei einer Mutante von *Drosophila*, die keine XOD-Aktivität aufwies, nur Pterin als Abbauprodukt, während bei dem Wildstamm auch Isoxanthopterin ermittelt werden konnte. Dadurch wurde bestätigt, daß durch die XOD aus Pterin Isoxanthopterin entsteht.

In neuerer Zeit wurde auch berichtet, daß das Pterin aus quinoidem Dihydrobiopterin über Dihydropterin entstehen kann (EDWARDS, 1987).

2.3.3. Regulation der Pteridinsynthese

Über die Regulation der Pteridinbildung im Gewebe und deren Exkretion liegen noch wenig Erkenntnisse vor. Bisher sind lediglich Kenntnisse über die Regulation der Synthese von H_4 -Biopterin gewonnen worden.

Für die Aktivität der GTP-CH I und des H_4 -Biopteringehaltes konnte eine hormonale Regulation in der Nebennierenrinde festgestellt werden (VIVEROS et al., 1981; ABOU-DONIA et al., 1985; DUCH et al., 1986). Das bei Stress aus dem Hypophysenvorderlappen freigesetzte Adrenocorticotrope Hormon (ACTH) führte bei s.c.-Verabreichung an Ratten zu einer Aktivitätssteigerung der GTP-CH I und zu einer Erhöhung der H_4 -Biopterinkonzentration in der Nebennierenrinde. Nach Hypophysektomie konnte ein Abfall der GTP-CH I-Aktivität und der H_4 -BP-Konzentration in der Nebennierenrinde, aber auch in anderen Organen, z.B. in der Milz, Knochenmark und Leber, festgestellt werden. Hieraus ist zu schließen, daß die H_4 -BP-Synthese in der Nebennierenrinde und in anderen Organen unter dem Einfluß der Hypophyse steht.

Sowohl Pharmaka, die zu vermehrten Aktionspotentialen des Nervus splanchnicus führen, wie Reserpin, als auch eine durch Insulin induzierte Hypoglykämie verursachten in der Nebennierenrinde und im Nebennierenmark eine erhöhte GTP-CH I Aktivität und einen erhöhten H_4 -BP-Gehalt (ABOU-DONIA et al., 1982). Dieser Anstieg an Biopterin konnte durch Cycloheximid, einen Hemmstoff der Proteinbiosynthese, verhindert werden (VIVEROS et al., 1981).

2.4. Quantifizierung der Pteridine

Für die Bestimmung und Quantifizierung der verschiedenen Pteridingehalte im Urin und im Gewebe wurden bis heute verschiedene Techniken entwickelt. Bei den meisten Pteridinbestimmungen in Harn und Gewebe müssen zuvor Proteine und Lipide beseitigt werden (GUYRE, 1972; FUKUSHIMA, 1980). Durch die Proteinfällung kann jedoch ein gewisser Anteil der Pteridine mit dem Präzipitat verlorengehen. Daher wurden neuerdings auch Methoden ohne vorherigen Deproteinisierungsschritt entwickelt.

Die heute gebräuchlichste Methode für den Pteridinnachweis und die Pteridinquantifizierung ist die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC). Sie zeichnet sich durch ihre hohe Empfindlichkeit bis in den Picogrammbereich aus und ist auch aufgrund ihrer relativ schnellen Durchführbarkeit und ihres vertretbaren Kostenaufwands in vielen Laboratorien gebräuchlich (BAILEY und AYLING, 1975; FUKUSHIMA und NIXON, 1980; STEA et al., 1980).

Daneben kann die quantitative Bestimmung auch mit Gaschromatographie in Kombination mit Massenspektrometrie durchgeführt werden (HAUG, 1970). Desgleichen werden enzymatische und radiometrische Methoden verwendet (GUROFF et al., 1967). Aus dem Umstand, daß der Trypanosoma-Parasit *Crithidia fasciculata* Biopterin zum Wachstum braucht, wurde ein mikrobiologisches Bestimmungsverfahren für Biopterin entwickelt (DEWEY und KIDDER, 1971). Für die quantitative Bestimmung von Neopterin wurde ein Radioimmunassay-Test entwickelt (ROKOS und ROKOS, 1983 und 1985).

Weitere Möglichkeiten zur Bestimmung der natürlich vorkommenden Pteridine sind die Papierchromatographie, die ein- und zweidimensionale Dünnschichtchromatographie, die Ionenaustauscherchromatographie und die Elektrophorese (WATSON et al., 1978). Diese Techniken finden heute wegen ihres hohen zeitlichen Aufwandes keine Anwendung mehr.

2.5. Vorkommen der Pteridine

2.5.1 In der Natur

Das natürliche Vorkommen unkonjugierter Pteridine konnte bei einer Reihe von Tierfamilien, zahlreichen Arten von Mikroorganismen und in Pflanzen nachgewiesen werden.

In zur Photosynthese befähigten Bakterien ist ein deutlicher Anstieg des Pteridingehaltes während der Photosyntheseaktivität gefunden worden. Daraus schloß man, daß die Pteridine als Elektronenakzeptor fungieren (FULLER and NUGENT, 1969). Ebenso spielen die Lumazine, die Abbauprodukte von Pteridinen sind, eine wichtige Rolle bei der Lumineszenz von Bakterien (SMALL et al., 1980).

Für die Färbungen der Schmetterlingsflügel sind vor allem Xanthopterin und Sepiapterin für gelb, Leukopterin für weiß und Erythropterin für rot verantwortlich (WATT und BOWDEN, 1966).

In Haut und Augen von Fischen (ZIEGLER, 1960) und Amphibien (HAMA and OBIKA, 1960) und in der Haut von Reptilien (BLAIR and GRAHAM, 1960) konnten Biopterin und die sehr lichtempfindliche reduzierte Form, das Tetrahydrobiopterin, nachgewiesen werden. Sie sind in der Haut in sogenannten Chromatophoren bzw. Pterinosomen lokalisiert. Neuere Untersuchungen bei Mensch und Ratte ergaben eine gewisse Schutzfunktion der Pteridine bei hoher Lichtintensität auf das Auge (RAO und COTLIER, 1985).

2.5.2. Hühnerembryo

Über das Vorkommen von Pteridinen in den verschiedenen Kompartimenten des Hühnereis (Eiklar, Eidotter, subembryonale Flüssigkeit, Amnion- und Allantoisflüssigkeit) und in Organen des Embryos (Leber und Niere) berichtete NAUMANN (1987). Er konnte in der Leber und Niere von Hühnerembryonen Biopterin, Pterin und Isoxanthopterin nachweisen, wobei er feststellte, daß es im Dotter und in der subembryonalen Flüssigkeit von bebrüteten Hühnereiern ab dem 5. Tag zu einem Anstieg der Pteridinkonzentrationen kam. Bei Untersuchungen der Leber- und Nierenpteridingehalte von Hühner-

embryonen an verschiedenen Bebrütungstagen stellte er fest, daß Biopterin in der Niere bis zum 16. Tag deutlich in seiner Konzentration anstieg, in der Leber der Konzentrationsanstieg jedoch erst zwischen dem 16. und 18. Tag deutlich war. Während auch Pterin in der Leber ab dem 14. Tag in seiner Konzentration stark anstieg, nahm die Pterinkonzentration in der Niere nur noch wenig zu.

2.5.3. Mensch und Säugetiere

Um Kenntnisse über die Biosynthese und die Funktionen von Pteridinen beim Menschen und beim Säugetier zu erlangen, bestimmte man zuerst die Biopteringehalte aller Organe von Labortieren (FUKUSHIMA und NIXON, 1980).

4 Jahre später bestimmten DUCH et al. (1984) die Neopterin-, Biopterin- und GTP-CH I-Gehalte in Organen und Körperflüssigkeiten von Mensch, Affe, Hund und Mäusen, wobei in der Hypophyse, Leber, Milz, Knochenmark und Nebenniere ein sehr hoher Gehalt an Biopterin und GTP-CH I festgestellt wurde. Auch im Urin der untersuchten Spezies wurden hohe Biopterinwerte ermittelt. Neopterin wurde in größerem Umfang im Harn von Menschen und Affen gefunden. Im Harn von Hunden wurden nur sehr niedrige Werte und in dem der Maus gar kein Neopterin nachgewiesen. Rokos et al. (1985) ergänzten die Ergebnisse von DUCH mit Serum-Neopterinwerten bei Pferden, Schafen und Kaninchen.

Aufgrund der Befunde von DUCH et al. (1984), daß in der Leber von Säugetieren ein hoher Biopteringehalt zu finden ist, vermutete man, daß der Leber bei der Biosynthese der Pteridine eine Schlüsselfunktion zukommt. So bestimmten HASLER und NIEDERWIESER (1986) die Pteridingehalte in den Lebern von Menschen und Säugetieren (Affe, Schwein, Hund, Rind, Schaf u.a.). Neopterin wurde nur beim Menschen in der Leber in sehr hoher Konzentration nachgewiesen, Biopterin war dagegen bei allen untersuchten Spezies in größeren Mengen vorhanden.

Pterin zeigte selbst bei Individuen gleicher Spezies (Schaf oder Schwein) sehr unterschiedliche Werte. Isoxanthopterin konnten sie nur in der Schweineleber in Spuren nachweisen. In diesem Versuch wurden auch die Aktivitäten der für die Pteridinsynthese wichtigen Enzyme (GTP-CH I, Sepiapterinreduktase und Dihydropterinreduktase) in der Leber untersucht. Dabei konnte beim Menschen eine sehr hohe Sepiapterinreduktaseaktivität festgestellt werden.

Auch der Niere schrieb man eine wichtige Funktion im Pteridinstoffwechsel zu (DHONDT et al., 1986). Ihre Bestimmungen von Neopterin und Biopterin in Harn, Blut und Nierengewebe beim gesunden Menschen zeigten, daß das Neopterin/Biopterin-Verhältnis im Serum beim Menschen wesentlich breiter war als im Urin und die Biopterinausscheidung höher als die von Neopterin. Daraus schlossen die Autoren, daß ein signifikanter Anteil des ausgeschiedenen Biopterins in der Niere selbst synthetisiert wurde. Eine Messung der Pteridine im Nierengewebe, in dem ein engeres Neopterin/Biopterin-Verhältnis (0,23) als in der Leber (1,13) zu finden war, bestätigte dieses Ergebnis.

HÄBERLE et al. (1983) untersuchten die Biopterinausscheidung im Harn von Ratten. Sie stellten fest, daß die Harnausscheidung an Biopterin mehr als dreimal so hoch war, als es in der Niere filtriert wurde. Aus dem Befund, daß die Niere über Harn und venöses Blut mehr Biopterin ausschied als sie über die arterielle Versorgung aufnahm, vermuteten die Autoren, daß in der Niere Biopterin de novo synthetisiert wurde.

Im Harn des Menschen fanden FUKUSHIMA und NIXON (1980) sowohl Neopterin als auch Biopterin in sehr hohen Konzentrationen. Hierbei betrugen die Pteridinspiegel im Urin das 300- bis 1000-fache der Serumwerte. Die Neopterinkonzentration im Harn von Kindern lag im Vergleich zu Erwachsenen etwas höher (HAUSEN et al., 1982; NIEDERWIESER et al., 1980). Der Harnbiopterinspiegel von Männern war etwas niedriger als der von Frauen (STEAD et al., 1980), der Neopterinspiegel dagegen etwas höher.

GASSNER (1987) konnte im Harn gesunder Hunde unterschiedlicher Rasse, Größe, Alter und beiderlei Geschlechts nur sehr geringe Unterschiede der Pteridinwerte feststellen. Aufgrund dieser Übereinstimmungen konnte er die Werte in eine Gruppe zusammenfassen (Tab. 1). Weiter stellte er fest, daß eine Überprüfung der Harnpteridinwerte vor und nach nicht-neoplasiebedingten Operationen (Osteosynthesen, Implantatentfernung, Kastration) keine signifikanten Veränderungen ergab. Für die Katze konnte er erstmals ein Harnpteridinmuster erstellen.

Tab. 1:

Pteridinwerte im Harn gesunder Hunde (Vergleichswerte) in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{X} \pm \text{SD}$) nach GASSNER (1987):

	Neopterin	Biopterin	Pterin	Isoxanthopterin
n = 28	0,038	2,00	0.104	0,650
SD	$\pm 0,019$	$\pm 0,56$	$\pm 0,046$	$\pm 0,260$

ANDONDONSKAJA-RENN und ZEITLER (1983) haben das Pteridinmuster und den Pteridingehalt in den Blutzellen von Mensch, Affe und Hund bestimmt. In den Erythrozyten des Hundes waren im Gegensatz zum Menschen relativ hohe Biopterin- (18 ng/ml Blut) und Pteringehalte (13 ng/ml Blut) nachzuweisen, während bei Mensch und Affe vor allem Neopterin in höheren Konzentrationen vorkam. DUCH et al. (1984) konnten in den Erythrozyten des Hundes ebenfalls einen Biopteriningehalt von 18 ng/ml Blut messen.

Noch höhere Biopteriningehalte in den Blutzellen ausgewachsener Hunde fanden ZIEGLER et al. (1982). Sie stellten im Vollblut 106 ng Biopterin /ml Blut fest, wobei die Erythrozytenfraktion mit 78 ng Biopterin/ml Blut den größten Teil ausmachte. 21 ng Biopterin/ml Blut waren in den Leukozyten

enthalten. Die Biopterinbestimmung erfolgte in dieser Arbeit jedoch durch den Crithidia fasciculata assay, wodurch die höheren Werte zu erklären sind.

1987 untersuchten ANDONDONSKAJA-RENN und ZEITLER (1987) neben Lymphozyten in Thymus und Tonsillen auch Erythrozyten und Leukozyten im peripheren Blut des Menschen. Dabei stellten sie fest, daß in der Leukozytenfraktion Neopterin das dominierende Pteridin darstellte, sich aber auch relativ viel Biopterin finden ließ. Der Neopteringehalt peripherer Blutlymphozyten war gegenüber den Lymphozyten vom Thymus (90 % T-Lymphozyten) und von den Tonsillen (40 % T-Lymphozyten) zweifach erhöht. Jedoch war das Neopterin/Biopterin-Verhältnis in den Lymphozyten von Thymus und Tonsillen aufgrund derer hohen intrazellulären Biopteringehalte wesentlich enger. Aus dem Befund, daß die Pteridinkonzentrationen in den Knochenmarkszellen gegenüber den peripheren Blutzellen stark erhöht waren, vermuteten die Autoren im Knochenmark einen intensiven Pteridinstoffwechsel. In den Erythrozyten des Menschen betrugen die Neopterinwerte das Doppelte der Biopterinwerte. Auch die Thrombozyten zeigten wegen ihrer relativ hohen Biopterinkonzentrationen ein enges Neopterin/-Biopterin-Verhältnis.

2.6. Bedeutung der Pteridine für Funktionen und Dysfunktionen bei Mensch und Säugetier

2.6.1. Entwicklung und Wachstum

Es gibt Hinweise dafür, daß die Pteridine bei der Entwicklung und beim Wachstum von Bedeutung sind. So wurde festgestellt, daß die Pteridinkonzentrationen in der ersten Phase der Larvalentwicklung von Amphibien und bei der Differenzierung und dem Beginn der Metamorphose stark ansteigen (ZIEGLER, 1965).

Aus der Beobachtung, daß in Zellkulturen immer dann vermehrt Neopterin abgegeben wurde, wenn das Proliferationsstadium beendet war oder die Zelldifferenzierung begann, schlossen WACHTER und seine Forschergruppe, daß Pteridine das Wachstum entweder durch Aktivierung oder Inaktivierung von hemmenden Faktoren beeinflussen oder daß Pteridine das Wachstum durch eine Maskierung von m-RNA-Abschnitten regulieren (WACHTER et al., 1982). Eine Bildung von Wasserstoffbindungen zwischen Pteridinen und den Basen der Nukleotiden wäre möglich. Diese maskierten m-RNA-Abschnitte könnten die Regulation der Proteinbiosynthese beeinflussen.

2.6.2. Kofaktorfunktion der Pteridine

KAUFMAN und FISHER gelang es erstmals, die Kofaktorfunktion hydrierter Pteridine im Stoffwechsel zu zeigen (KAUFMAN und FISHER, 1962). H_4 -Biopterin ist als Kofaktor bei der Umwandlung von Phenylalanin zu Tyrosin durch die Phenylalaninhydroxylase beteiligt. Nachfolgende Untersuchungen ergaben, daß neben den Aktivitäten der Phenylalaninhydroxylase zwei weitere aromatische Aminosäurehydroxylasen, nämlich Tyrosin- und Tryptophanhydroxylase, limitierend mit der zellulären Konzentration von H_4 -Biopterin verbunden sind (NAGATSU et al., 1964). Diese Enzyme spielen eine entscheidende Rolle bei der Synthese von Katecholaminen (Dopamin, Adrenalin, Noradrenalin) und Indolaminen (Serotonin, Melatonin). Ebenso ist H_4 -Biopterin als Kofaktor für die Alcyglyzerolmonooxygenase (TIETZ et al., 1964) beteiligt.

Eine weitere Kofaktorrolle von Tetrahydrobiopterin wurde bei der Spaltung von Glyzeryläthern zu Fettsäuren und Fettalkoholen festgestellt (TIETZ et al., 1964; PFLEGER et al., 1967).

Eine Reihe von Stoffwechseldefekten, die die Katecholaminsynthese und die Bildung von Neurotransmittern betreffen, sind auf Störungen der H_4 -Biopterinsynthese zurückzuführen.

Ein bekanntes Beispiel hierfür ist die atypische Phenylketonurie (CURTIUS et al., 1979). Aufgrund der Kofaktorfunktion von H_4 -Biopterin bei der Synthese von Neurotransmittern ist anzunehmen, daß bei einigen neurologischen und psychischen Erkrankungen ein Zusammenhang zwischen einem erniedrigten H_4 -Biopterinspiegel in Blut, Harn und Liquor (SMITH et al., 1974; LOVENBERG et al., 1979; CURTIUS et al., 1982) und der Erkrankung selbst besteht. Der therapeutische Einsatz von H_4 -Biopterin zeigte bei der atypischen Phenylketonurie teilweise Erfolge (KAUFMAN et al., 1983; SMITH and NICHOL, 1985).

2.6.3. Pteridine bei Belastung

Einen Zusammenhang zwischen dem Serum-Kortisolspiegel und dem Serum-Neopterinspiegel stellten ROKOS und KUNZE (1987) her. Bei körperlicher Belastung (Jogging) erreichte der Neopterinspiegel im Blut schon zu Beginn des Joggings maximale Werte, wohingegen Kortisol erst während der Belastung allmählich anstieg. Zu diesem Zeitpunkt sanken die Neopterinwerte ab. Die Leukozytenzahl im Blut stieg mit der Belastung und auch in der Erholungsphase kontinuierlich an. Den schnellen Rückgang der erhöhten Neopterinwerte erklärten die Autoren mit dem kontinuierlichen Anstieg an Kortisol.

Einen interessanten Zusammenhang zwischen veränderten Haltungsbedingungen und erhöhten Pteridinwerten im Harn von Ratten stellte KOLLER (1988) fest. Wurden Ratten 12 Stunden in runden Stoffwechselkäfigen gehalten, dann konnten im Urin wesentlich höhere Pteridinkonzentrationen gemessen werden, als bei entsprechenden Kontrolltieren, die in quadratischen Stoffwechselkäfigen eingesetzt wurden.

2.7. Pteridine in Verbindung mit Immunreaktionen

Im Blut und Harn von Patienten mit Viruserkrankungen, wie Mumps, Influenza, Röteln, Varicellen und auch AIDS, fanden WACHTER et al. (1979) und KERN et al. (1984) erhöhte Neopterinwerte. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich auch bei Autoimmunkrankheiten wie z.B. bei primärer chronischer Arthritis und ulzerativer Colitis (HAUSEN et al., 1983; NIEDERWIESER et al., 1985; ROKOS et al., 1983). Dies gilt auch für bakterielle und parasitäre Infektionen mit intrazellulärer Vermehrung des Erregers (Tuberkulose (FUCHS et al., 1983), Lepra und Malaria (SCHMUTZHARD et al., 1984a und b)).

Frettchen, die an Influenza-Viren erkrankt waren, und Schafe, deren Immunsystem durch T₃ und TSH-Antisera stimuliert worden war, zeigten unterschiedlich stark erhöhte Serumneopterin Spiegel (ROKOS et al., 1985).

Bei der Parvovirose des Hundes sowie der feline Leukose und infektiösen Peritonitis fand GASSNER (1987) unterschiedliche Veränderungen in den Pteridinkonzentrationen.

Vor und während Nieren- und Knochenmarkstransplantatabstoßungen (FUCHS et al., 1982; NIEDERWIESER et al., 1984; FINK et al., 1983) fanden die Autoren stets ein bis zwei Tage vor einer klinischen Diagnose eine erhöhte Neopterinexkretion, so daß sich die Neopterinbestimmung in Harn und Serum sehr gut zur Früherkennung von Abstoßungsreaktionen eignet (WOLF et al., 1987). Eine immunsuppressive Therapie verursachte ein Absinken der Neopterinkonzentrationen (HUBER et al., 1983; ZIEGLER und ROKOS, 1986).

Alle diese Forschungsergebnisse führen zu dem Schluß, daß Pteridine im Zusammenhang mit Immunvorgängen gebildet werden. Einen weiteren Hinweis für diese Vermutung liefert die Neopterinfreisetzung in allo-antigen-aktivierten T-Lymphozyten in vitro und in vivo (FUCHS et al., 1982; HUBER et al., 1983) durch erhöhte lymphozytäre Blutspiegel während graft

versus host diseases (NIEDERWIESER et al., 1984) und durch in vitro Versuche bei lektinstimulierten Lymphozyten (ZIEGLER et al., 1983).

Bei der Aktivierung von Makrophagen mit Interferon-Gamma in vivo und in vitro stellten HUBER et al. (1987) fest, daß in diesen Zellen vor allem Neopterin gebildet wird, weil die Synthese von Neopterin aus Dihydroneopterin gegenüber der de novo-Synthese von Tetrahydrobiopterin in Monozyten/Makrophagen den Vorrang hat. Das Interferon-Gamma ist befähigt, die Enzymaktivität von GTP-CH I zu steigern, wodurch es zu einer intrazellulären Synthese von Dihydroneopterintriphosphat kommt, welches in Makrophagen überwiegend dephosphoryliert und anschließend als Dihydroneopterin und Neopterin ausgeschieden wird. Bisher konnte jedoch noch kein Beweis dafür erbracht werden, daß Neopterin selbst immunmodulatorische Eigenschaften besitzt (WOLOSZCZUK et. al., 1986).

Pteridine können aber nicht nur als Produkte der Lymphozytenproliferation angesehen werden, sie sind auch an deren Regulation beteiligt. So gibt es Hinweise dafür, daß H_4 -Biopterin die Aktivität von Interleukin-2 moduliert. Die Aktivierung der Lymphozytenproliferation durch Concanavalin-A wird durch hydrierte Pteridine wie H_4 -Biopterin, H_2 -Biopterin und H_2 -Sesquiapterin unterstützt, während Xanthopterin und eine Reihe anderer Pteridine eine hemmende Wirkung auf die Zellproliferation zeigen (ZIEGLER et al., 1983).

2.8. Pteridine in Verbindung mit Tumoren

2.8.1. Mensch

Besonderes Interesse haben Pteridine jedoch im Zusammenhang mit ihrem vermehrten Auftreten bei Tumoren erregt. In der Humanmedizin ist dabei das Neopterin von herausragender Bedeutung. Seit 1979 wurde es als Marker für maligne Tumoren

des Urogenitaltrakts (FUCHS et al., 1984; AULITZKY et al., 1984; FRICK et al., 1985), bei gynäkologischen Tumoren (BICHLER et al., 1982) und als Marker für hämatologische Neoplasien (HAUSEN et al., 1981; GRÜNEWALD et al., 1982) postuliert.

ROKOS et al. (1980) stellten bei 70 % der Tumorpatienten im Harn einen erhöhten Neopterin Spiegel fest. Biopterin war dagegen nur bei 22 % der Patienten gegenüber gesunden Menschen angestiegen, während Pterin und 6-Hydroxymethylpterin kaum Veränderungen aufwiesen. STEA et al. (1981) fanden dagegen im Harn von Tumorpatienten einen signifikanten Anstieg von Xanthopterin, Neopterin und Pterin und ein Defizit an Isoxanthopterin.

Bei Tumorpatienten stellte man eine positive Korrelation zwischen der Neopterinausscheidung und der Malignität, sowie dem Stadium des Tumors und dem Fortschreiten der Erkrankung fest (FUCHS et al., 1984; AULITZKY et al., 1984), so daß eine Erfassung und Verlaufskontrolle bestimmter maligner Erkrankungen, vor allem hämatologischer Neoplasien, durch wiederholte Neopterinbestimmungen möglich war (HUBER et al., 1987). Bei präkanzerogenen Stadien und benignen Tumoren konnten keine vermehrten Neopterinexkretionen gefunden werden (BICHLER et al., 1982).

2.8.2. Tier

Schon Jahre vor der Verwendung der Pteridine als humanmedizinische Tumormarker berichteten KOKOLIS und ZIEGLER (1977) von einem erhöhten Tetrahydrobiopterin Gehalt im Blut tumortragender Ratten. WACHTER et al. (1979a) beschrieben einen erhöhten Hydroxylumazinspiegel bei Mäusen mit Ehrlich-Aszites-Tumor.

Im Harn von tumor erkrankten Hunden (Mammatumoren, Hodentumoren, Perianaltumoren, Melanome, Lipome u.a.) stellten

GOLDBERG et al. (1988) im Vergleich zu gesunden Kontrollhunden unterschiedlich erhöhte Pteridinwerte fest. Bei diesen Untersuchungen war zu sehen, daß bei Hunden, im Gegensatz zum Menschen, nicht immer Neopterin vermehrt im Harn ausgeschieden wurde, sondern daß vielmehr bei den Neoplasien des Hundes andere Pteridine, wie z.B. Biopterin oder Pterin, vermehrt im Urin auftraten. Ein Zusammenhang zwischen der Malignität und der Pteridinexkretion war bei den untersuchten Tumorpatienten nicht festzustellen. So zeigten z.B. Hunde mit benignen Lipomen, die schon längere Zeit bestanden (bis zu 2 Jahre), sehr hohe Biopterinkonzentrationen im Urin, wohingegen bei den malignen Hämangioendotheliomen keine erhöhten Pteridinexkretionen zu messen waren.

2.9. Neoplasien

2.9.1. Definition und Vorkommen

Eine völlig befriedigende Definition der Tumoren ist nicht möglich. Trotzdem kann man versuchen, sie als lokale Wachstumsexzesse, die autonom verlaufen und den Gesamtorganismus schädigen, zu definieren (STÜNZI und WEISS, 1982). Unter den Haussäugetieren kommen Geschwülste am häufigsten beim Hund vor. Für die Häufigkeit des Auftretens von Geschwülsten beim Hund sind Rassen-, Alters- und Geschlechtsdisposition von großer Bedeutung. Ein typisches Beispiel für Rassendisposition ist der Boxerhund. Besonders typisch ist seine Disposition für Mastzellentumoren. Zum Lebensalter ist zu sagen, daß grundsätzlich im höheren Alter Tumoren häufiger auftreten, wobei die epithelialen wesentlich stärker altersabhängig sind als die mesenchymalen. Die Geschlechtsdisposition zeigt sich in Blastomen nicht geschlechtsspezifischer Organe. So treten über 90 % der beim Hund nicht selten vorkommenden Geschwülste der Perianaldrüsen beim Rüden auf (STÜNZI und WEISS, 1982).

2.9.2. Einteilung der Tumoren

Im Gegensatz zur Humanmedizin werden die einzelnen Tumorarten in der Tiermedizin nicht in verschiedene Stadien (TNM-System: Primärtumoren, regionale Lymphknotenmetastasen und Fernmetastasen) klassifiziert (GRUNDMANN, 1985).

Nach ihrer Herkunft, also nach ihrer Histogenese, werden Tumoren grundsätzlich in epitheliale und mesenchymale Blastome sowie Tumoren des pigmentbildenden Gewebes (Melanome) unterteilt. Sind in einem Tumor sowohl epitheliale als auch mesenchymale Gewebe neoplastisch entartet, dann spricht man von Mischtumoren (STÜNZI und WEISS, 1982). Hinsichtlich ihrer Dignität unterscheidet man benigne von den malignen Tumoren.

Jeder Tumor besteht aus Parenchym und Stroma. Das Parenchym wird aus den eigentlichen Tumorzellen, das Stroma aus dem Stützgewebe und den ernährenden Blutgefäßen gebildet. Mesenchymale Tumoren besitzen in der Regel histoiden Aufbau (Stroma und Parenchym sind nur sehr schwer unterscheidbar), während die epithelialen Tumoren meist eine organoide Struktur (Parenchym und Stroma sind gut voneinander getrennt) besitzen.

In epithelialen Tumoren wird das Stroma aus dem ortständigen Bindegewebe gebildet. Mesenchymale Blastome können ihr Stroma selbst produzieren, allerdings unter der Einschränkung, daß Gefäße aus dem gesunden Gewebe einwachsen. Im Tumor selbst kommt es häufig zu Störungen der Blutversorgung. Durch eine niedrige Blutzellgeschwindigkeit in den Tumorgefäßen, Aussackungen und Defekten in der Wand und dadurch bedingtem Austritt von hochmolekularen Proteinen in das Tumorgewebe, kommt es zu einer Hypoxie im Tumorzentrum und nicht selten zu Nekrosen (ODA et al., 1982). In dieses nekrotische Material wandern insbesondere histiozytäre Zellen aus der Peripherie mit dem Ziel ein, es zu resorbieren (SANDERSLEBEN et al., 1981; STÜNZI und WEISS, 1982).

2.9.3. Tumorummunologie

Die Entartung einer Zelle beruht auf Änderungen in der Expression oder Repression von DNA-Sequenzen der Zelle selbst oder, wie bei den Virustumoren, in der Einschleusung neuer DNA-Sequenzen (STÜNZI und WEISS, 1982). Dabei können neue Proteine oder Glykoproteine entstehen, die neue antigene Eigenschaften besitzen und somit von dem Immunsystem des Tumorträgers als fremd erkannt werden (sog. Tumorspezifische Antigene (TSA)). Treten die Antigene nicht in dem normalen Gewebe auf, aus dem der Tumor entstand, so spricht man auch von Tumorassoziierten Antigenen (TAA).

Der tumorerkrankte Organismus versucht durch verschiedene Mechanismen das Tumorwachstum zu begrenzen bzw. den Tumor zu eliminieren. So sind zytotoxische Antikörper befähigt, Einzeltumorzellen zu zerstören und eine Metastasierung zu verhindern. In vielen Fällen sind Antikörper aber nicht schützend, sondern fördern sogar das Tumorwachstum. Ebenso sind zytotoxische T-Lymphozyten befähigt, besonders in der frühen Phase der Tumorentwicklung, Tumorzellen zu zerstören. Durch die Stimulierung weiterer spezifischer T-Lymphozyten werden Lymphokine freigesetzt. Diese lösen eine lokale, verzögerte Allergie aus, wobei Makrophagen aktiviert werden. Auch durch das Zusammenwirken von antikörperbildenden Plasmazellen (entstehen aus B-Lymphozyten) und unspezifischen Effektorzellen (Granulozyten, Makrophagen, Natürliche Killerzellen) werden Tumorzellen vernichtet. Unter gewöhnlichen Bedingungen zerstören Makrophagen Tumorzellen nicht. Sie können aber durch verschiedene Substanzen (Lymphokine, Interferon, u.a.) aktiviert und damit zur Zerstörung von Tumoren befähigt werden (NOLTENIUS, 1987).

Eine Voraussetzung, daß sich überhaupt Tumoren entwickeln können, ist, daß diese sich häufig den immunologischen

Gegenreaktionen entziehen. So sind viele Tumoren befähigt, ihre Immunogenität während ihrer Entwicklung zu ändern. Auch wird die Entstehung von Neoplasien durch eine Schädigung des Immunsystems selbst (Immunsuppression) begünstigt, oder der Tumor selbst greift durch eine Antikörperblockade in das Immunsystem ein und entzieht sich dadurch jeglicher Lymphozytotoxizität (SEGAL-EIRAS, 1982). Man kennt Tumoren, die bestimmte Hemmstoffe produzieren, die vor allem gegen Makrophagen gerichtet sind.

2.9.3.1. Gewebsreaktionen der Tumoren

Der Zusammenhang zwischen proliferierenden Tumorzellen und lymphozytären Infiltraten im Tumorgewebe ist schon seit über 60 Jahren hergestellt worden (MURPHY, 1921). IOACHIM (1976) stellte in eigenen Untersuchungen fest, daß Lymphozyten-Zellinfiltrate in den meisten Tumorgeweben vorhanden sind, vornehmlich in den frühen Stadien des Tumorwachstums. Bei manchen Neoplasien (medulläres Mammakarzinom, Morbus Hodgkin, Seminome u.a.) sind die lymphozytären Infiltrate mit der Tumorregression assoziiert. Auch entspricht die Anzahl der Zellinfiltrate dem histologischen Grad der Zelldifferenzierung. Verschiedene histologische Typen an Neoplasien korrelieren mit unterschiedlichen Mustern der zellulären Gewebsreaktion. So sind z.B. in Lungentumoren bei dem squamösen Karzinom sehr viele Zellinfiltrate zu sehen, während das Haferzellkarzinom nur sehr wenige oder gar keine Zellinfiltrate enthält. Das beständige Auftreten von Plasmazellen in squamösen Zellkarzinomen verschiedener Organe ist ganz charakteristisch. So enthalten die Zellinfiltrate im Tumorgewebe eine signifikante Menge an Immunglobulinen sämtlicher Klassen. Es werden auch tumorzellspezifische Immunglobuline gefunden. Aufgrund dieser Befunde schlägt IOACHIM vor, für die Isolierung und Identifizierung der tumorspezifischen Lymphozyten und Antikörper das Tumorgewebe selbst und nicht peripheres Blut heranzuziehen.

In einer Studie über Zervixkarzinome der Frau berichteten LOWE et al. (1981), daß bei diesen Karzinomen erhebliche Zellinfiltrationen an eosinophilen Granulozyten um den Tumor zu finden sind. Diese Zellinfiltrate sehen die Autoren als eine spezifische Reaktion auf den Tumor, ähnlich den lymphozytären Zellinfiltraten bei bestimmten Karzinomen. Ebenso findet man auch bei bestimmten Tumoren neben einer Gewebe-eosinophilie (tumor-associated tissue eosinophilia (TATE)) eine Bluteosinophilie (tumor-associated blood eosinophilia (TA-BE)), die entweder zusammen mit der TATE oder getrennt auftritt. Dabei scheinen Tumoren mit Bluteosinophilie (TABE) eine schlechtere Prognose zu haben (meist liegen schon Metastasen vor) als jene ohne Bluteosinophilie, während Tumoren mit ausschließlicher Gewebeeosinophilie (TATE) eine bessere Prognose besitzen.

2.9.4. Tumormarker im Serum

Seit vielen Jahren hofft man, Tumormarker zu finden, die vor den ersten klinischen Symptomen im Serum erscheinen und/oder beim Auftreten der ersten Symptome die Diagnose und Klassifizierung eines bösartigen Tumors erlauben würden. Diese Hoffnung hat sich bisher nicht erfüllt (NOLTENIUS, 1987). Einige der vielen in der Literatur beschriebenen Tumormarker (Karzinoembryonales Antigen, α -Fetoprotein, Prostata-spezifisches Antigen u.a.) haben jedoch einen begrenzten diagnostischen Wert, insbesondere bei der Verlaufskontrolle maligner Neoplasien während und nach der Behandlung. Nach einer anfänglichen Überbewertung kommt man heute zu dem Schluß, daß Neopterin in der Humanmedizin zwar kein spezifischer Tumormarker ist (CONRAD et al., 1984), doch eine spezifische Aussage über die Aktivierungszustände des T-Lymphozyten-Makrophagensystems zuläßt.

2.10. Neoplasien beim Hund

2.10.1. Mammatumoren

Mit Ausnahme der Hauttumoren stellen die Mammatumoren mit ca. 25% aller Tumoren die häufigste Tumorart des Hundes dar (JUBB et al., 1985). Ältere Hündinnen sind bevorzugt betroffen, wobei das Maximum der Tumorfrequenz zwischen dem 9. und 11. Lebensjahr liegt. Ungefähr 40 bis 50% der Mammatumoren des Hundes sind bösartig. Die Metastasenbildung erfolgt vorzugsweise in regionären Lymphknoten und Lunge. Die Ursache für das Entstehen der Mammatumoren ist nicht bekannt, sicherlich begünstigen aber endokrine Störungen ihre Entstehung (DAHME und WEISS, 1983).

Die häufigste Mammatumorart bei der Hündin sind Mischtumoren, von denen mehr als die Hälfte gutartig (Mischtumoren wenig malignen Typs) und nur ca. ein Drittel bösartig sind. Neuere elektronenmikroskopische, enzym- und immunhistochemische Untersuchungen geben Hinweise dafür, daß die in diesen Mischtumoren auftretenden Muzine, Knorpel und Knochenanteile durch eine Metaplasie der myoepithelialen Zellen entstehen (JUBB et al., 1985). Des öfteren werden bei ein und demselben Hund neben gutartigen Mischtumoren auch Adenokarzinome der Mamma gefunden. Diese Adenokarzinome (epitheliale Tumoren) zeigen oft ein ausgeprägtes infiltratives Wachstum und neigen nicht selten zur Metastasierung und Ulzeration der Haut, wodurch es zu starken Entzündungserscheinungen mit Invasion von Immunzellen (Lymphozyten und Plasmazellen) kommen kann (MISDORP et al., 1972).

2.10.2. Hodentumoren

Hodentumoren werden häufig bei älteren Hunden und in dystrophischen Hoden beobachtet. Je nach Morphologie werden sie als Leydigische Zwischenzelltumoren, Seminome oder Sertoli-Zelltumoren bezeichnet. Neben diesen differenzierten

Geschwülsten treten nicht selten Misch- und Übergangsformen sowie undifferenzierte Karzinome auf. Mesenchymale Geschwülste und Teratome sind von untergeordneter Bedeutung.

Die Leydigischen Zwischenzelltumoren kommen besonders häufig bei alten Hunden vor und sind durchwegs gutartig. Sie machen ca. 50,% aller Hodentumoren aus und können zum Teil auch als knotige Hyperplasien angesprochen werden. Diese Tumoren sind für hämorrhagische Nekrosen und Zystenbildungen in den degenerierten Bezirken prädisponiert (JUBB et al., 1985).

Die Sertoli-Zelltumoren sind etwas weniger häufig und gleichen makroskopisch den Seminomen. Sie produzieren beim Hund des öfteren östrogene Hormone, wodurch es zu Feminisierungserscheinungen (Gynäkomastie, Attraktivität für Rüden), zur Hodenatrophie, zu Hautveränderungen (Alopezie, Akanthose, Hyperpigmentierung) und zur metaplastischen Verhornung der Prostata kommt.

Seminome sind mehr oder weniger maligne Karzinome, die von Samenzellen, insbesondere Spermiogonien, ausgehen. Das Stroma wechselt von einem feinen, gefäßhaltigen Maschenwerk bis zu stärkeren bindegewebigen Septen. Fast immer kommen darin kleinere und größere Nester von Lymphoidzellen und Lymphozyten vor. Selten treten im Bereich von Nekrosen oder sekundären Entzündungen auch Histiozyten hinzu (JOEST, 1985). Metastasen werden nur bei Seminomen und Sertoli-Zelltumoren, allerdings nicht allzu häufig, gesehen.

2.10.3. Milztumoren

In der Milz kommen neben gutartigen Hämangiomen auch häufig maligne Hämangioendotheliome (Hämangiosarkome) vor. Diese sehr maligne wachsenden Tumoren der Endothelzellen neigen

zu starken Blutungen, die Hämatome innerhalb des Tumors bilden und meistens zum frühen Tod des erkrankten Tieres führen. Maligne Hämangioendotheliome kommen auch in anderen Geweben, wie Leber und rechter Vorhof des Herzens vor.

Relativ häufig werden in der Milz auch Retikulumzellsarkome beobachtet. Sie sind durchwegs bösartig und meist mit gleichen Tumoren in Leber und Lymphknoten vergesellschaftet. Vereinzelt treten auch extrapossale Plasmozytome und Lymphosarkome auf. Sekundäre Geschwülste sind in der Milz selten (JUBB et al., 1985).

2.10.4. Perianaltumoren

Diese Adenome hepatoider Drüsen kommen nur beim Hund vor und finden sich besonders in der Perianalgegend, aber auch an Präputium, Vulva, Schwanz, Hintergliedmaßen und am Rumpf. Es sind vor allem alte Rüden betroffen, während in selteren Fällen auch Hündinnen erkranken. Es besteht die Neigung zu ausgedehnter Ulzeration und Lymphozyteninfiltration (SANDERSLEBEN et al., 1981).

2.10.5. Lipome

Diese fettgewebsartigen Tumoren treten vor allem am Thorax und im Bereich der Oberschenkel auf, wobei Hündinnen häufiger als Rüden betroffen sind. Oft enthalten diese gutartigen Tumoren nekrotische, dystrophisch verkalkte und schleimartige Bezirke (DAHME und WEISS, 1983).

2.10.6. Mastzellentumoren

Diese Tumorart wird vor allem bei älteren Hunden in der Haut beobachtet, wobei für Boxer und Boston-Terrier eine

Rassendisposition besteht. Es gibt solitäre, multiple und generalisierte Formen, wobei letztere auch als Mastzellenleukose bezeichnet werden. Diese Tumoren sind gegenüber dem angrenzenden Gewebe nur undeutlich abgesetzt und ulzerieren häufig. Mastzellentumoren sind potentiell maligne und können durch Freisetzung von Histamin und Heparin aus den Mastzellengranula zu Blutungen, Schock und Magen-Darmgeschwüren führen (DAHME und WEISS, 1983).

2.10.7. Maligne Melanome

Die sehr bösartig wachsenden malignen Melanome kommen vor allem in der Haut (Gliedermaßenenden, Rumpf, Geschlechtsorgane), aber auch in der Mundhöhle (Zungenschleimhaut, Rachen Schleimhaut) vor. Die bis zu faustgroßen, meist ulzerierten Tumoren sind mehr oder weniger stark pigmentiert. Sie führen in der Mehrzahl der Fälle innerhalb weniger Monate, auch nach deren Extirpation, durch Rezidiv- und/oder Metastasenbildung zum Tod (FRESE, 1978).

2.10.8. Osteosarkome

Osteosarkome kommen bevorzugt bei großen Hunderassen in den proximalen Extremitätenknochen, gefolgt von Rippen und Kopfknochen, vor. Sie gehören zu den hochmalignen Geschwülsten mit Neigung zur bevorzugten Metastasierung in die Lunge, mit der Tendenz, unfertigen, noch nicht verkalkten Knochen oder auch besser ausdifferenziertes und mineralisiertes Knochengewebe, auszubilden. Osteosarkome zeichnen sich durch rasches, explosionsartiges Wachstum und enorme Massenzunahme aus und haben selbst bei früher Amputation, Splenektomie oder anderweitigen Therapieversuchen eine schlechte Prognose (DAHME und WEISS, 1983; JOHN et al., 1982).

2.11. Nieren- und Leberbeschallungen

Die Zertrümmerung von Nieren- und Gallensteinen durch Stoßwellen hat seit ihrer Einführung im Jahre 1980 sehr schnell Verbreitung gefunden (BRENDDEL, 1981; BRENDDEL, 1984). Schon 1973 berichteten HÄUSLER und KIEFER, daß Nierensteine tatsächlich durch Stoßwellen in vitro zerstört werden können (HÄUSLER und KIEFER, 1973). In Zusammenarbeit mit der Firma Dornier, Medizintechnik, München-Germering, wurde ein Konzept ausgearbeitet, um mittels Stoßwellen Steine im Körperinneren zu zertrümmern, ohne einen chirurgischen Eingriff vornehmen zu müssen.

Nach in vitro Vorversuchen wurde von CHAUSSY am Institut für Chirurgische Forschung Großhadern, ein Hundemodell entwickelt, in dem die Zertrümmerung von menschlichen Nierensteinen, die in das Nierenbecken des Hundes implantiert worden waren, untersucht werden konnte (CHAUSSY et al., 1980). Die genaue Fokussierung der Stoßwellen wurde mit zwei sich schneidenden Röntgenstrahlen erreicht. Dieses System wird auch heute noch zur Ortung von Nierensteinen verwendet.

Die Wirkung von Stoßwellen auf menschliches Gewebe kann mit einem Explosionstrauma verglichen werden. Sie treten immer an Grenzflächen zwischen Lufträumen und Körpergewebe auf (Lunge, gasgefüllter Darm, Trommelfell, u.a.). An diesen Grenzflächen kommt es zu einer Totalreflektion der Welle.

Ein wesentlicher Punkt bei der Stoßwellenbeschallung ist die Anzahl und die Frequenz der Entladungen. In Deutschland liegt die Zahl der pro Steinertrümmerung applizierten Stoßwellen bei etwas über 1000, wohingegen in den USA in den Kliniken pro Steinertrümmerung regulär ca. 2000 - 3000 Stoßwellen verabreicht werden. Über die morphologischen Veränderungen an der Niere durch verschiedene Entladungszahlen berichtet ZENGRON (1986). Neuere Untersuchungen von Hunde-

nieren, die durch Stoßwellen unterschiedlicher Frequenz - bei gleicher Entladungszahl - beschallt wurden, zeigen, daß die Nebenwirkungen an den beschallten Nieren (fokale Läsionen, subkapsuläre Blutungen, Hämolyse u.a.) durch eine niedrigere Beschallungsfrequenz deutlich herabgesetzt werden können (DELIUS, im Druck, persönliche Mitteilung 1988).

2.12. Problemstellung

Im Harn von neoplasieerkrankten Hunden werden vermehrt Pteridine ausgeschieden. Bisher ist noch ungeklärt, ob diese erhöhte Pteridinausscheidung Ursache einer vermehrten Biosyntheseleistung des betroffenen Organs oder des Tumors selbst ist, oder ob die vermehrte Pteridinexkretion die Folge einer neoplasiebedingten Stimmulierung des Immunsystems mit immunzellulärer Pteridinsynthese darstellt.

Ziel dieser Arbeit ist es nun, ein sogenanntes Pteridinmuster in Organen gesunder Hunde zu erstellen, d.h. außer den "Standardpteridinen" Neopterin und Biopterin die Pteridine 6-Hydroxymethylpterin, Pterin und Isoxanthopterin zu bestimmen, und aufzuzeigen, ob sich bei mechanischen Organschäden (Stoßwellen) und bei Neoplasien die Pteridinmuster und -konzentrationen in dem betroffenen Gewebe selbst verändern.

3. Material und Methodik

3.1. Material

3.1.1. Klinisch gesunde Tiere

Als Vergleichstiere dienten 35 Hunde, die größtenteils (n = 31) aus dem Institut für Chirurgische Forschung Großhadern, München, und der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung (GSF) Neuherberg (n = 4) stammten. Dabei handelte es sich um 15 männliche und 20 weibliche Beaglehunde im Alter von 1 - 5 Jahren. Diese Tiere standen im Zusammenhang mit Experimenten und Operationen unter tierärztlicher Kontrolle und waren klinisch gesund.

Zusätzliche männliche Kontrolltiere (n = 24) für Kontrollharn und Hodengewebe stammten aus der Chirurgischen Tierklinik der Tierärztlichen Fakultät München, die dort zur Kastration - meist wegen Aggressivität - eingeliefert wurden. Auch diese Tiere waren klinisch gesund.

Von den 31 Beaglehunden aus dem Institut für Chirurgische Forschung Großhadern wurden 17 Hunde der Nierenbeschallung, 9 Hunde der Leberbeschallung und 5 Hunde der Nierentransplantation unterzogen. Die vier Hunde aus der GSF Neuherberg waren im Herzbereich mit Laserstrahlen behandelt worden.

3.1.2. Hunde mit Stoßwellenbeschallung

Am Institut für Chirurgische Forschung Großhadern, München, wurden an 26 Beaglehunden (Alter zwischen 1 und 4 Jahren) zwei unterschiedliche Beschallungen (ZHENGROU, 1986) mit einem Stoßwellenlithotripter (HM 2) der Firma Dornier-Medizintechnik vorgenommen, der auch zur Nierensteinzertrümmerung verwendet wird (BRENDEL, 1981). Das Gerät ist aus vier Kompo-

nenten aufgebaut: einer Wanne, einer Anlage zur Stoßwellenerzeugung, einer beweglichen Liege und einer Röntgenanlage. Bei der einen Versuchsreihe wurden 17 Beaglehunden die Druckwellen direkt auf das Nierenbecken fokussiert (Nierenbeschallung) und mit zwei verschiedenen Beschallungsfrequenzen - 8 Hunde mit 1 Hz und 9 Hunde mit 15 Hz - beschallt. Die Entladungszahl betrug 3000 Stoßwellen, bei einer Spannung von 20 KV und einer elektrischen Kapazität von 40 nF (nano Farad). Von 12 Hunden konnten direkt vor der Nierenbeschallung ($n=12$) und 24 ± 2 h später ($n = 17$) bei der Sektion ca. 5 ml Harn sowie die in 3.1.4.2. beschriebenen Organe entnommen werden.

Bei der anderen Versuchsreihe wurden die Stoßwellen direkt auf die Gallenblasenwand fokussiert ("Leberbeschallung") und ähnlich, entweder mit 1 Hz (5 Hunde) oder mit 100 Hz (4 Hunde) Beschallungsfrequenz, gearbeitet. Hier wurden 1500 Entladungen bei einer Spannung von 15 KV und einer Kapazität von 80 nF eingestellt. Von 4 Tieren konnte vor der Beschallung und von allen Tieren ($n = 9$) 24 ± 2 h nach der Beschallung Harn gewonnen werden. Die Organentnahme erfolgte ebenfalls 24 ± 2 h nach der Beschallung bei der Sektion.

Alle Versuchstiere ($n = 26$) wurden für die Beschallung mit einer Barbituratnarkose (ca. 0,5 ml Nembutal /kg KGW i.v., Roussell Uclaf) anästhesiert.

Bei der Nierenbeschallung wurde den Versuchstieren zur besseren Kontrastdarstellung der Nierengefäße bei der Röntgenkontrolle 100 ml Telebrix N 30 g (Byk Gulden) infundiert. Bei der Leberbeschallung wurde den Versuchstieren vor der Beschallung zur besseren Gallengangskontrastierung 100 ml Endomirabil (Byk Gulden) infundiert. 24 Stunden nach der Beschallung wurden die Tiere durch die gleiche Narkose zur Nieren- bzw. Leberperfusion in vivo anästhesiert und anschließend durch eine Überdosis von 20 ml Kalium i.v. (Braun/Pfrimmer) eingeschláfert. Im Anschluß daran konnten die Organproben (ca. 3 g) frisch entnommen werden.

3.1.3. Hunde mit Neoplasien

Die folgenden Hunde mit Neoplasien wurden im Laufe der Jahre 1987/1988 in die Chirurgische Tierklinik eingeliefert und dort operiert. Aufgrund der pathologisch-histologischen Gutachten des Instituts für Tierpathologie der Tierärztlichen Fakultät München über die entfernten Tumoren konnte folgende Einteilung getroffen werden:

A. Mischtumoren

31 Hunde (♀) mit Mammatumoren, davon:

- 9 Mischtumoren wenig malignen Typs
- 13 Adenokarzinome der Mamma (epitheliale Tumoren)
- 9 Mammatumoren, bei denen bei demselben Tier sowohl Adenokarzinome als auch Mischtumoren wenig malignen Typs gefunden wurden

B. Epitheliale Tumoren

- a) 12 Hunde (♂) mit Perianaldrüsentumoren, davon 11 mit benignem Adenom hepatoider Drüsen und einem sehr maligne wachsenden Adenokarzinom
- b) 11 Hunde (♂) mit Hodentumoren, davon 6 Leydigsche Zwischenzelltumoren, 3 Sertolizelltumoren und zwei Seminome

C. Mesenchymale Tumoren

- a) 9 Hunde (6♂, 3♀) mit einem Hämatom auf Basis eines malignen Hämangioendothelioms der Milz
- b) 7 Hunde (2♂, 5♀) mit Lipomen
- c) 4 Hunde (3♂, 1♀) mit Mastzellentumoren
- d) 4 Hunde (3♂, 1♀) mit Osteosarkomen

D. Tumoren der Pigmentzellen

4 Hunde (♂) mit malignen Melanomen

3.1.4. Materialgewinnung

3.1.4.1. Harn

Der Harn wurde den meisten Hunden mittels Metallkatheter entnommen, wenn nicht spontan abgesetzter Harn aufgefangen werden konnte. Bei den Kontrolltieren wurde der Harn meistens präoperativ mittels Katheter gewonnen, in seltenen Fällen unmittelbar im Anschluß an eine Operation oder, in vier Fällen, kurz vor der Euthanasie. Bei den nieren- und leberbeschallten Hunden wurde der Harn jeweils kurz vor der Narkose mit Phenobarbital entnommen und zusätzlich ein zweites Mal, einen Tag nach erfolgter Beschallung, bei der Sektion.

Auch bei den an Neoplasien erkrankten Patienten erfolgte die Urinentnahme vornehmlich präoperativ, in wenigen Fällen aber auch unmittelbar nach der Operation, da nach GASSNER (1987) keine Veränderungen der Pteridinwerte durch Narkose, Operationstrauma oder frischen Blutverlust festgestellt worden waren.

3.1.4.2. Kontrollgewebe

Von den zur Verfügung stehenden Tieren konnten folgende Gewebeproben im Anschluß an die Euthanasie entnommen werden:

Von 9 Kontrollhunden:

Leber, Milz, Nierenrinde, Lunge, Zungenmuskulatur, Mamdrü-sengewebe und Hoden

Von 9 leberbeschallten Beaglehunden:

Milz, Nierenrinde, Lunge, Zungenmuskulatur, Mammarydrüsen-
gewebe und Hoden

Von 17 nierenbeschallten Beaglehunden:

Leber, Milz, Lunge, Zungenmuskulatur, Mammarydrüsen-
gewebe und Hoden

Von den 9 Hunden mit Leberbeschallung konnten die Lebern nicht zur Pteridinbestimmung herangezogen werden. Ebenfalls mußte auch auf die Nieren der 17 nierenbeschallten Hunde verzichtet werden. Von den anderen 18 Nieren wurde nur die Nierenrinde zur Pteridinbestimmung verwendet. Bei Leber, Milz, Lunge, Zunge und Hoden wurde die zu bestimmende Probe stets aus der Mitte des Organs entnommen. Das Mammarygewebe wurde makroskopisch abpräpariert.

3.1.4.3. Tumor und "peripheres Gewebe"

Von den tumor erkrankten Patienten der Chirurgischen Tierklinik München wurde unmittelbar nach erfolgter Extirpation des Tumors ein Teilstück des Tumors (jeweils, falls möglich, ca. 3 g) für die Pteridinuntersuchung entnommen. Ebenso wurde das dem Tumor unmittelbar umliegende Gewebe (sog. "peripheres Gewebe") makroskopisch abpräpariert, wobei meistens auch ca. 3 g "peripheres Gewebe" gewonnen werden konnte. So wurde z. B. bei einem Leydigischen Zwischenzelladenom des Hodens der Tumor von dem noch makroskopisch gesunden umliegenden Hodenparenchym (= peripheres Gewebe, Restparenchym) getrennt, um dieses gesondert aufzubewahren und die darin enthaltenen Pteridinkonzentrationen zu messen.

3.1.5. Materiallagerung

3.1.5.1. Harnlagerung

Der frisch gewonnene Harn (durchschnittlich 1 - 4 ml) wurde in Eppendorf-Cups (Größe 1,5 ml) zu je 1,5 ml abgefüllt.

Zu je 1 ml Urin wurden 10 mg EDTA (Ethylendiamintetraessigsäure) gegeben, um eine Sedimentierung zu verhindern (HAUSEN et al., 1982). Urinsedimente, die aus Kalziumphosphat, Kalziumoxalat und Kalziumkarbonat bestehen, enthalten keine Pteridine und kein Creatinin. Hier wurde das ganze Neopterin und Creatinin im Überstand gefunden. Im Gegensatz dazu läßt sich bei den Urinsedimenten von Harnsäure und Natriumurat im Niederschlag Neopterin und Creatinin feststellen. Im Überstand waren die Neopterinwerte um 16% und die Creatininwerte um 10% niedriger als in der Ausgangssubstanz.

Nicht sofort aufgearbeiteter Harn wurde bei -20°C in Dunkelheit tiefgefroren, um eine eventuelle Photooxidation zu vermeiden.

3.1.5.2. Gewebelagerung

Die Gewebe- bzw. Organentnahme erfolgte bei den Tumorproben in gleicher Weise wie bei den Kontrollen. Jeweils unmittelbar nach der Operation bzw. Euthanasie der Tiere wurde ein ca. 3 g schweres Gewebestück entnommen und in Szintillationsgläser bei -20°C tiefgefroren, falls sie nicht sofort weiter aufgearbeitet wurden.

3.2. Methodik

3.2.1. Aufarbeitung der Urinproben (modifiziert nach FUKUSHIMA und NIXON, 1980; STEA et al., 1980)

Die Auftrennung der zu bestimmenden Pteridine erfolgt mittels reversed-phase Hochdruckflüssigkeitschromatographie und ihre quantitative Messung durch Fluoreszenzdetektion. Daher ist es notwendig, die nicht fluoreszierenden Dihydro- und Tetrahydropteridine in die fluoreszierenden, oxidierten Formen überzuführen.

Aufgrund der Befunde von FUKUSHIMA und NIXON (1980), daß Tetrahydrobiopterin nur im sauren Milieu vollständig in Biopterin übergeführt wird, während es im alkalischen Milieu zu 80% in Pterin umgewandelt wird, erfolgt die Oxidation bei der Aufarbeitung im sauren Milieu. Bei dieser Art der Aufarbeitung muß berücksichtigt werden, daß eine in der untersuchten Probe enthaltene Folsäure bis zu 50 % zu Pterin umgesetzt wird (FUKUSHIMA und SHIOTA, 1974).

Alle verwendeten Chemikalien haben suprapur-Qualität (Merk, Darmstadt), wenn nicht anders angegeben.

Zur Harnaufarbeitung wird jeweils 1 ml frisch entnommener oder aufgetauter Harn in ein Reagenzglas pipettiert. Dann wird die Probe mit 300 µl 1n HCl zur Proteinfällung auf pH 1 eingestellt. Die weitere Aufarbeitung erfolgt wegen der Lichtempfindlichkeit der Pteridine im abgedunkelten Raum.

Zur Oxidierung der reduzierten Derivate wird die Probe anschließend mit einer 1% KJ / 0,5% J₂-Lösung im Überschuß versetzt, wobei meistens 200 µl der KJ/J₂-Lösung ausreichen, in seltenen Fällen aber auch bis zu 500 µl notwendig werden.

Die vollständige Oxidation aller Inhaltsstoffe wird durch den Stärketest geprüft, wobei es bei ausreichender Oxidation zu einer intensiven Blaufärbung kommt, wenn man auf der Tüpfelplatte zu 10 µl Probe 10 µl Stärke gibt. Anschließend wird die Probe für 60 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln gehalten. Laut STEA et al. (1980) würden auch 15 Minuten in den meisten Fällen genügen, doch gelegentlich ist eine etwas längere Inkubation notwendig.

Nach 1 Stunde wird dem Reaktionsgemisch die gleiche Menge einer 1%-igen Ascorbinsäure zugegeben (meistens auch 200 µl), um das überschüssige Jod zu entfernen. Bei einer nochmaligen Überprüfung durch den Stärketest tritt Entfärbung ein. Das durch die Salzsäure ausgefällte Protein wird anschließend bei 6000 U/min 15 Minuten lang abzentrifugiert.

Der Überstand wird jetzt auf eine mit Dowex 50W x 8 / 100-200 mesh (Sigma, Heidelberg) gefüllte Kationenaustauschersäule (30 x 5 mm) aufgetragen, um die Pteridine zu reinigen, d.h. um hochmolekulare und viele andere fluoreszierende Stoffe, die bei der HPLC-Bestimmung stören, zu entfernen. Das Eluat wird verworfen.

Jetzt wird die Säule mit 16 ml millipore-Wasser gewaschen, wobei das Eluat aufgefangen wird. Dieses Eluat - als Eluat I bezeichnet - enthält ca. 99% des Isoxanthopterin, das wegen seines niedrigen pK_a-Wertes nicht an der Kationenaustauschersäule zurückgehalten wird.

Anschließend werden auf die Säule 6 ml 1N NH₄OH (pH 9) aufgetragen, wobei alle restlichen der hier zu bestimmenden Pteridine (Neopterin, Biopterin, 6-Hydroxymethylpterin und Pterin) eluiert werden. Das Eluat - als Eluat II bezeichnet - wird, wie oben, vollständig aufgefangen und mit 400 µl Eisessig neutralisiert, weil die Fluoreszenz pH-abhängig ist und das Injektionsventil der HPLC-Säule alkalische Werte nicht toleriert.

Nach kräftigem Schütteln der beiden Eluate werden jeweils ca. 1 ml Eluat entnommen und bei -20°C in 1,5 ml Eppendorfcups tiefgefroren.

3.2.2. Aufarbeitung der Organ- und Tumorseiten

Die Aufarbeitung der zu untersuchenden Organe und Tumoren wird ebenso nach FUKUSHIMA und NIXON (1980) vorgenommen. Die aufgetauten Gewebeseiten werden exakt auf 2,0 g abgewogen und mit dem 10-fachen Volumen einer 0,1n Phosphorsäure im Ultrathorax und im Potter-Homogenisator homogenisiert (1300 U/min, ca. 5 - 10 Schläge). 9 ml des Homogenats werden mit 1 ml einer 2n Trichloressigsäure (TCA) zur Proteinfällung versetzt und kräftig geschüttelt. Danach werden dem Homogenat 2 ml einer KJ/J₂-Lösung (1% KJ, 0,5% J₂ in 0,2 molarer TCA) zugeführt und, wie oben, 1 Stunde im Dunkeln bei Raumtemperatur oxidiert. Dann werden die Proben so wie der Harn (Zentrifugieren, Eluatgewinnung der Eluate I und II) weiterverarbeitet. Bei einem Tumorgewicht von weniger als 2 g wird ebenfalls eine Verdünnung des Homogenats von 1 : 10 (1 Teil Tumor + 9 Teile Phosphorsäure) eingehalten.

3.2.3. Reversed-phase Hochdruckflüssigkeitschromatographie

Die weitere Reinigung der beiden Eluate erfolgt nun über reversed-phase HPLC und die Quantifizierung der Pteridine durch Fluoreszenzspektrometrie. Das HPLC-System besteht aus einer Hochdruckpumpe der Firma Biotronik (Biotronik BT 3020, Maintal), einem automatischen Probenaufgeber (Deripas BT 0421 Biotronic), einem Fluoreszenzdetektor Modell RF 530 (Shimadzu, Japan) und einem chromatopac-Integrator C-R3A (Shimadzu, Japan).

Als mobile Phase dient ein 1,7 mmolarer Phosphorsäurepuffer mit 10% Methanol und 1% Acetonitril (pH 4,0), der zuerst mit einem 0,4 m-millipore Filter gefiltert und entgast wird.

Eine 5 μ -Spherisorb ODS II (Octadecylsilan)-Säule mit 500 x 4,6 mm Innendurchmesser bildet zusammen mit einer vorausgeschalteten Vorsäule (20 x 4,6 mm Innendurchmesser) die stationäre Phase. Die Flußrate beträgt 1,0 ml pro Minute.

Die Messung der Pteridine erfolgt bei einer Excitation von 350 nm und einer Emission von 450 nm. Die Peaks können anhand der verschiedenen Retentionszeiten identifiziert und die Konzentrationen der Pteridine im Vergleich zu dem jeweiligen Standardpteridin berechnet werden. Diese oxidierten Standardpteridine (Isoxanthopterin, Neopterin, Biopterin, 6-Hydroxymethylpterin und Pterin) wurden z.T. den Proben zugeführt, um einen genauen Vergleich der Retentionszeiten ziehen zu können. Mit diesen kommerziell synthetisch hergestellten Referenzsubstanzen (Dr. B. Schircks, Wettswil, Schweiz) werden auch die Pteridinkonzentrationen geeicht. Die Wiederfindung nach der Aufarbeitung (sowohl im Homogenat als auch im Harn) liegt bei über 95 %. Das entspricht einer nahezu vollständigen Wiederfindung, wenn man die in den Probengläsern zurückbleibenden Flüssigkeitsreste berücksichtigt.

Die Gesamtanalysenzeit beträgt beim Eluat I ca. 15 Minuten, bei Eluat II 20 Minuten, wobei die Retentionszeiten für Neopterin bei ca. 6,6 Minuten, für Biopterin bei ca. 11,0 Minuten, für 6-Hydroxymethylpterin ca. 12,6 Minuten und für Pterin ca. 13,6 Minuten liegen.

Die Nachweisgrenze der Pteridine liegt bei diesem System bei ca. 2,0 ng/g Naßgewicht für Neopterin, Biopterin, 6-Hydroxymethylpterin und Pterin. Bei Isoxanthopterin können

bis zu 0,20 ng/g Naßgewicht nachgewiesen werden. Für die Analyse im HPLC wird ein Volumen von 300 µl benötigt. Davon werden exakt 100 µl Eluat I und Eluat II über die Proben-schleife in die Meßapparatur injiziert.

3.2.4. Creatininbestimmung im Urin

Um die täglich stark veränderliche Konzentrierung des Harns zu relativieren, wurde im Probeurin die Creatininkonzentration in mg/ml Harn gemessen. Die quantitative vollständige Sammlung eines 24-Stundenharns war bei dem Patientenbestand nicht möglich. Die gemessenen Pteridine wurden auf die Creatininkonzentration im Harn bezogen.

Creatinin ist ein stickstoffhaltiges Endprodukt des Eiweißstoffwechsels, das endogen im Muskelstoffwechsel entsteht. Es ist neben dem spezifischen Gewicht der beste Indikator für die Nierenfunktion, weil es in der Niere weder reabsorbiert noch durch die Tubuli sezerniert wird. So bietet Creatinin eine geeignete Bezugsgröße für die Pteridinkonzentration im Harn, wenn man eine physiologische Nierenfunktion voraussetzt.

Zur Creatininbestimmung wurde die Methode nach JAFFE (1886) mit Enteiweißung, modifiziert nach SEELIG und WÜST (1969), verwendet (Test-Combination Böhringer, Mannheim). Das Testprinzip beruht darauf, daß Creatinin in alkalischer Lösung mit Pikrat einen gelborange gefärbten Komplex bildet, dessen Farbintensität der Creatininintensität proportional ist. Sie wird photometrisch bei einer Wellenlänge von 546 nm Hg gemessen.

3.2.5. Trockengewichtsbestimmung

Von den post operationem entnommenen Tumorproben wurden - soweit vorhanden - genau 2,0 g Gewebe Feuchtgewicht abgewogen und mit 18 ml 0,1 n Phosphorsäure auf eine Verdünnung von 1 : 10 homogenisiert. Ebenso wurden auch die Kontrollorgane aufbereitet. Von diesen Gewebekomogenaten wurde das Trockengewicht bestimmt, indem 1000 μ l Homogenat in ein bis auf 1 mg genau gewogenes Reagenzglas pipettiert und 24 h bei 103 °C getrocknet wurden. Danach wurde das Reagenzglas nochmals gewogen und das Trockengewicht von 1000 μ l Homogenat festgestellt.

3.2.6. Statistische Berechnungen

Die in den Tabellen angegebenen Ergebnisse sind arithmetische Mittelwerte mit der dazugehörigen Standardabweichung ($\bar{x} \pm SD$). Die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen und den Vergleichstieren wurden durch parameterfreie Tests verglichen. Nach dem H-Test von KRUSKAL und WALLIS (KOLLEGIUM BIOMATHEMATIK NW, 1976) zur Feststellung der Gruppenunterschiede wurde mit Hilfe des U-Tests von WILCOXON, MAN und WITNEY (SACHS, 1984) auf eine Signifikanz zu den Kontrolltieren geprüft. Dabei wird $p < 0,05$ als signifikant bezeichnet.

4. Ergebnisse

4.1. Pteridine im Harn gesunder Hunde

Im Harn von 24 männlichen Kontrollhunden (Gruppe I) unterschiedlicher Rasse, die in der Chirurgischen Tierklinik zur Kastration anstanden, wurde eine Pteridinbestimmung durchgeführt (Tab. 2). Hierbei ergaben sich keine wesentlichen Abweichungen von den nach GASSNER (1987) festgestellten Pteridinwerten im Harn gesunder Hunde.

Unterschiede der renalen Pteridinexkretion konnten bei diesen Kontrolltieren in Bezug auf Rasse und Alter nicht nachgewiesen werden. 6-Hydroxymethylpterin war im Harn nicht meßbar.

Im Gegensatz zum Menschen macht bei Hunden nicht Neopterin, sondern Biopterin den Hauptanteil der Pteridinharnausscheidung aus (ca. 70 %).

Auch bei 16 (Gruppe II) von 26 Beaglehunden (14 ♂, 12 ♀) aus dem Institut für Chirurgische Forschung Großhadern, München, wurde kurz vor der Leber- bzw. Nierenbeschallung zur Kontrolle der Normalwerte Harn zur Pteridinbestimmung entnommen (Tab. 2). Dabei konnten für Biopterin etwas höhere, aber nicht signifikante Werte gefunden werden.

4.2. Pteridine im Harn von Hunden nach Nieren- bzw. Leberbeschallung

9 Beaglehunde (8 ♂, 1 ♀) im Alter von 1 - 3 Jahren wurden einer Leberbeschallung mit 1500 Stoßwellen unterzogen. Hierbei konnte 24 ± 2 h nach der Beschallung ein signifikanter Anstieg der Harnbiopterinwerte gemessen werden, wohingegen Neopterin, Pterin und Isoxanthopterin nicht verändert waren.

Die Beschallungen erfolgten bei einer Spannung von 15 KV und einer Kapazität von 80 nF, wobei 5 Tiere mit einer Frequenz von 1 Hz und 4 Tiere mit 100 Hz beschallt wurden. Wegen Übereinstimmung der Harnpteridinwerte bei der 1 Hz- bzw. 100 Hz-Beschallung, wurden diese in eine Gruppe zusammengefaßt (Tab. 3).

Ebenso wurden 17 Beaglehunde (6 ♂, 11 ♀) jüngeren Alters (1 - 5 Jahre) einer Nierenbeschallung mit 3000 Entladungen (40 nF, 20 KV) unterzogen. Lediglich die Beschallungsgeschwindigkeit war unterschiedlich (1Hz/15Hz). Es zeigte sich hier, wie auch bei der Leberbeschallung, ein signifikanter Anstieg von Biopterin im Harn 24 ± 2 h nach der Beschallung. Die anderen untersuchten Pteridine waren wie auch das Pteridinmuster nicht verändert, d.h. alle vor der Beschallung gemessenen Pteridine traten auch nach der Beschallung auf (Tab. 4).

Tab. 2:

Pteridinwerte im Harn gesunder Hunde der Kontrollgruppe I im Vergleich zu der Kontrollgruppe II in µg/mg Creatinin ($\bar{x} \pm SD$):

	Neopterin	Biopterin	Pterin	Isoxanthopterin
Gruppe I	0,033	1,95	0,106	0,553
(n = 24)				
SD	±0,020	±0,70	±0,051	±0,280
Gruppe II	0,038	2,25	0,114	0,575
(n = 16)				
SD	±0,016	±0,80	±0,067	±0,159
Signifikanz	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

n.s. = nicht signifikant

Tab. 3:

Pteridinwerte im Harn von 9 Hunden 24 h nach Leberbeschallung (1500 Entladungen, 80 nF, 15 KV) im Vergleich zu denselben Tieren vor der Beschallung in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$):

	Neopterin	Biopterin	Pterin	IXPt
vor Besch.:	0,045	2,58	0,085	0,646
(n = 4)	$\pm 0,010$	$\pm 0,86$	$\pm 0,024$	$\pm 0,046$
nach Besch.:	0,044	3,91	0,087	0,574
(n = 9)	$\pm 0,024$	$\pm 0,74$	$\pm 0,040$	$\pm 0,263$
Signifikanz	n.s.	$p < 0,001$	n.s.	n.s.

n.s. = nicht signifikant

Tab. 4:

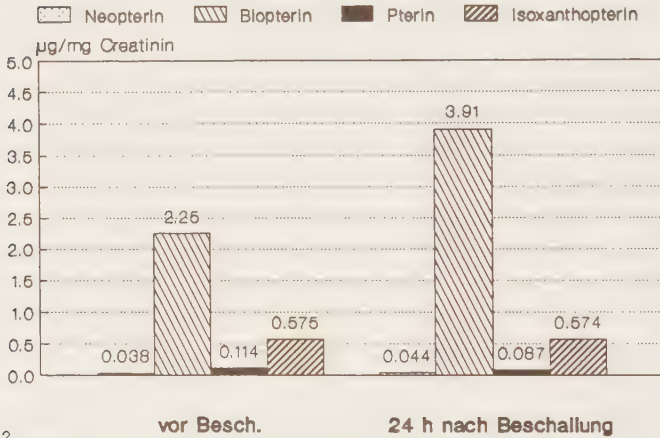
Pteridinwerte im Harn von (n = 17) Hunden 24 h nach Nierenbeschallung (3000 Entladungen, 40 nF, 20 KV) im Vergleich zu den selben Tieren vor der Beschallung in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$):

	Neopterin	Biopterin	Pterin	IXPt
vor Besch.:	0,033	2,13	0,116	0,546
(n = 12)	$\pm 0,014$	$\pm 0,75$	$\pm 0,061$	$\pm 0,146$
nach Besch.:	0,031	3,52	0,100	0,600
(n = 17)	$\pm 0,020$	$\pm 0,87$	$\pm 0,077$	$\pm 0,226$
Signifikanz	n.s.	$p < 0,001$	n.s.	n.s.

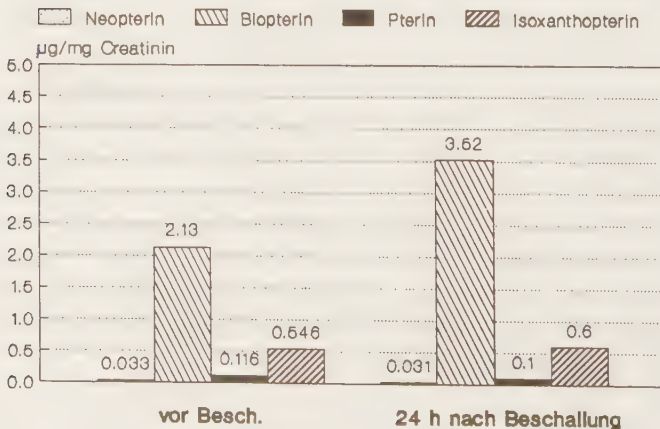
n.s. = nicht signifikant

Abb. 2 und 3 zeigen die Muster der Harnpteridine vor und 24 h nach Nieren- bzw. Leberbeschallung:

Leberbeschallung Harnpteridinwerte (n = 9)



Nierenbeschallung Harnpteridinwerte (n = 17)



Ein Vergleich der Harngehalte an Biopterin, des einzigen durch Organbeschallung vermehrt ausgeschiedenen Pteridins, ergab bei unterschiedlicher Beschallungsgeschwindigkeit und gleicher Beschallungsenergie keine statistisch gesicherten Unterschiede. Jedoch war eine gewisse Tendenz dahingehend zu bemerken, daß bei niedrigerer Beschallungsgeschwindigkeit (1 Hz) etwas höhere Biopterinwerte als bei der höheren Geschwindigkeit (15 Hz) festzustellen waren (Tab. 5).

Tab. 5:

Biopteringehalt im Harn von Beaglehunden 24 h nach Nierenbeschallung mit 1 Hz und 15 Hz bei 3000 Entladungen im Vergleich zu denselben Tieren vor der Beschallung in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin ($\bar{x} \pm \text{SD}$):

Biopterin	

vor Beschallung	
(n = 12)	2,13 $\pm$ 0,75

24 h nach	
1 Hz - Beschallung	
(n = 9)	3,68 $\pm$ 0,70

24 h nach	
15 Hz - Beschallung	
(n = 8)	3,43 $\pm$ 1,09

Zusammenfassend zeigt Abb. 4 die Muster der Harnpteridine von 26 Beaglehunden 24 h nach Leber- bzw. Nierenbeschallungen in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Creatinin:

Nieren- und Leberbeschallung Harnpteridinwerte ($n = 26$)

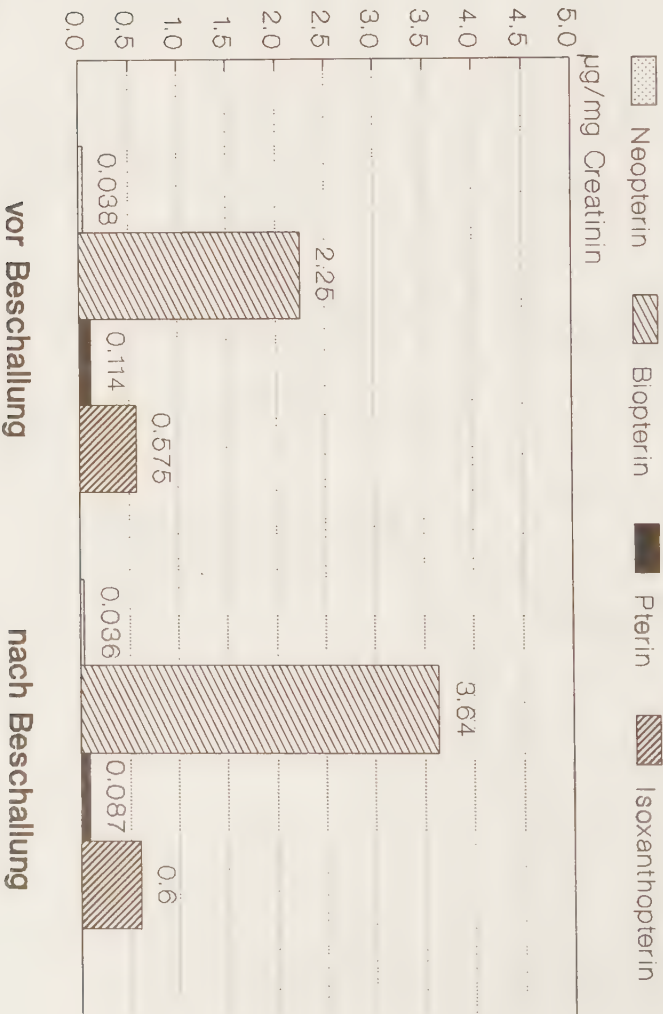


Abb. 4

4.3. Plasmauntersuchungen und Organhistologie von Hunden nach Nieren- bzw. Leberbeschallung *

Von allen 26 Beaglehunden wurde vor der Stoßwellenbeschallung, unmittelbar im Anschluß und 24 h nach der Beschallung heparinisiertes Blut zur Enzym- und Hämolysebestimmung im Plasma entnommen. Hierbei zeigte sich, daß sowohl durch die Leber- als auch durch die Nierenbeschallungen im Plasma eine starke Hämolyse (bis zu 70 mg Hb /dl) verursacht worden war, wenn die Beschallungsfrequenz 15 bzw. 100 Hz betragen hatte. Bei einer Frequenz von 1 Hz lag nur noch eine leichte Hämolyse vor, deren Werte im Bereich von 1 - 10 mg Hb /dl lagen. 24 h nach der Beschallung konnte bei fast allen Tieren keine Hämolyse mehr festgestellt werden.

Ebenso wurde von diesen Tieren auch vor, kurz nach und 24 h nach der Beschallung eine Leberenzymbestimmung im Plasma durchgeführt. So wurden die Enzymaktivitäten von GPT, GOT, LDH, γ -GT und der alkalischen Phosphatase bestimmt. Unmittelbar nach den Beschallungen und 24 h später konnte zwar eine Erhöhung dieser Enzyme festgestellt werden, jedoch können diese erhöhten Werte durch die gleichzeitig aufgetretene Hämolyse verfälscht sein.

Bei der Laparatomie der beschallten Hunde zur anschließenden Leber- bzw. Nierenperfusion konnte bei keinem Tier Flüssigkeit in der Bauchhöhle festgestellt werden. Vereinzelt waren Blutungen im Mesenterium oder in der Darmserosa zu beobachten. Ebenso traten bei einzelnen Tieren subkapsuläre Blutungen der Niere unterschiedlichen Ausmaßes (Petechien bis Markstückgröße) auf. Bei der histologischen Untersuchung der beschallten Lebern und Nieren am Institut für Tieranatomie (II) der Tierärztlichen Fakultät München konnten diffuse interstitielle Blutungen und Venenthrombosen

* Für die Überlassung dieser Ergebnisse ist dem Institut für Chirurgische Forschung Großhadern zu danken.

(bis zu 2 cm lange Zylinder) in den beschallten Organen festgestellt werden. Im Parenchym dieser Organe traten auch durch die Stoßwellen vereinzelt fokale Läsionen bzw. Nekrosen auf.

4.4. Pteridine im Harn von tumor erkrankten Hunden

Bei den in 3.1.3. aufgeführten Hunden mit Neoplasien wurden auch die Pteridinkonzentrationen im Harn gemessen. Dabei konnten übereinstimmende Werte mit GASSNER (1987) gefunden werden.

4.5. Pteridine in Organen gesunder Hunde

In Mamadrüsengewebe, Hodenparenchym, Milz, Leber, Nierenrinde, Lunge und Zungenmuskulatur wurden Pteridine zur Feststellung der Muster und Konzentrationen in Organen bestimmt (Tab. 6). Darüberhinaus wurden diese Ergebnisse als Kontrollwerte für tumorös entartetes Gewebe derselben Organe herangezogen. Die Angabe der Pteridinmengen erfolgte bezogen auf 1 g Feuchtgewicht der Organe. Durch eine Berechnung pro g Trockengewicht veränderten sich die Verhältnisse nicht.

Zur Bestimmung der Pteridinkonzentrationen in Organen gesunder Hunde standen 9 leberbeschallte und 17 nierenbeschallte Beaglehunde aus Großhadern und 9 weitere Kontrollhunde zur Verfügung. Aus diesem Grund wurden 3 Gruppen gebildet und die Pteridinkonzentrationen der einzelnen Gewebe miteinander verglichen. Es konnten jedoch keine wesentlichen Unterschiede in den 3 Gruppen (Nierenbeschallung-Leberbeschallung-9 weitere Kontrollhunde) festgestellt werden, so

daß diese Gruppen zu einer Kontrollgruppe zusammengefaßt werden konnten.

In den beschriebenen Organen waren verschiedene Pteridine und verschiedene Pteridinkonzentrationen zu finden.

In allen untersuchten Organen, mit Ausnahme der Mamma, in der kein Pterin enthalten war, konnten Biopterin, Pterin und Isoxanthopterin nachgewiesen werden.

Neopterin konnte nur in der Leber und in kleineren Konzentrationen auch in der Milz und in der Niere gefunden werden.

Wie im Harn, so war auch im Gewebe kein 6-Hydroxymethylpterin nachzuweisen.

4.5.1. Mammarydrüsen-gewebe

In 18 Mammarygewebsproben war nur Biopterin und Isoxanthopterin in meßbaren Konzentrationen enthalten (Tab. 6). Durch das unterschiedliche Alter und somit das mehr oder weniger stark ausgeprägte Gesäuge der Hündinnen (nur 4 Hündinnen waren schon in Laktation) kam eine breitere Streuung der Werte und somit der Standardabweichung zustande.

4.5.2. Hodenparenchym

Im Hodenparenchym von 24 männlichen Kontrollhunden (Gruppe I), die in der Chirurgischen Tierklinik zur Kastration anstanden, konnten Biopterin, Pterin und Isoxanthopterin in verschiedenen Konzentrationen nachgewiesen werden. Neopterin war nur in wenigen Proben in so geringen Konzentrationen enthalten, daß es vernachlässigt werden mußte. Zusätzlich standen 17 Hodengewebsproben von Beaglehunden nach Stoßwellenbeschallungen aus Großhadern zur Verfügung (Gruppe II).

Eine Abweichung im Pteridinmuster und in den Konzentrationen war nicht festzustellen, so daß die Gruppen I und II in eine Kontrollgruppe (I + II) zusammengefaßt werden konnten (Tab. 6). Die Pterinwerte unterlagen in beiden Gruppen starken Schwankungen. Biopterin, Pterin und Isoxanthopterin zeigten im Vergleich beider Gruppen zueinander keine statistischen Abweichungen.

4.5.3. Milz

In der Milz konnte bei allen 35 Hunden Biopterin, Pterin und Isoxanthopterin in sehr unterschiedlichen Konzentrationen bestimmt werden (Tab. 6). Neopterin war nur in 14 Proben in kleineren, Biopterin dagegen in allen untersuchten Proben in sehr hohen Konzentrationen nachzuweisen.

4.5.4. Leber

Neben sehr hohen Biopterin- und Pterinkonzentrationen konnte in 26 Leberproben auch ein beachtlicher Gehalt an Neopterin und Isoxanthopterin nachgewiesen werden (Tab. 6).

4.5.5. Nierenrinde

In 11 der 18 Nierenrindenproben konnte Neopterin in sehr unterschiedlichen Konzentrationen nachgewiesen werden. Biopterin war gegenüber der Leber stark erniedrigt, Pterin und Isoxanthopterin hatten dagegen hohe Werte (Tab. 6).

4.5.6. Lunge

In allen 35 Lungenproben konnten, mit Ausnahme von Neopterin, die Pteridine Bioppterin, Pterin und Isoxanthoppterin nachgewiesen werden (Tab. 6).

4.5.7. Zungenmuskulatur

In der Zungengrundmuskulatur von 35 Proben konnte Bioppterin, Pterin und Isoxanthoppterin gefunden werden. Neopterin war in keinem Fall nachzuweisen (Tab. 6).

Tab. 6:

Pteridinkonzentrationen in Organen gesunder Hunde (Kontrollgewebe) in ng/g Feuchtgewicht ($\bar{X} \pm SD$):

	Neopterin	Biopterin	Pterin	IXPT
Mammagewebe (n = 18)	n.m.	30,8	n.m.	1,40
SD		$\pm 14,8$		$\pm 0,77$
Hodengewebe Gruppe I (n = 24)	n.m.	64,2	90,2	1,85
SD		$\pm 16,7$	$\pm 44,0$	$\pm 0,76$
Hodengewebe Gruppe II (n = 17)	n.m.	68,5	104,8	1,70
SD		$\pm 15,5$	$\pm 46,2$	$\pm 0,33$
Hodengewebe (Gruppe I u. II) (n = 41)	n.m.	66,1	99,0	1,78
		$\pm 16,1$	$\pm 46,0$	$\pm 0,54$
Milzgewebe (n = 35)	7,79	191,0	38,0	0,81
SD (n=14)	$\pm 2,70$	$\pm 54,0$	$\pm 15,0$	$\pm 0,20$
Leberparenchym (n = 26)	54,0	480,0	425,0	2,30
SD	$\pm 16,0$	$\pm 103,0$	$\pm 152,0$	$\pm 1,00$
Nierenrinde (n = 18)	8,7	97,3	415,0	4,30
SD (n=11)	$\pm 7,9$	$\pm 34,2$	$\pm 74,0$	$\pm 1,20$
Lungengewebe (n = 35)	n.m.	59,0	5,0	1,13
SD		$\pm 12,0$	$\pm 1,6$	$\pm 0,51$
Zungenmuskulatur (n = 35)	n.m.	19,8	6,7	1,32
SD		$\pm 6,0$	$\pm 3,0$	$\pm 0,48$

n.m. = nicht meßbar

Abb. 5: Unterschiedliche Pteridinmuster in den verschiedenen Organen in ng/g Feuchtgewicht:

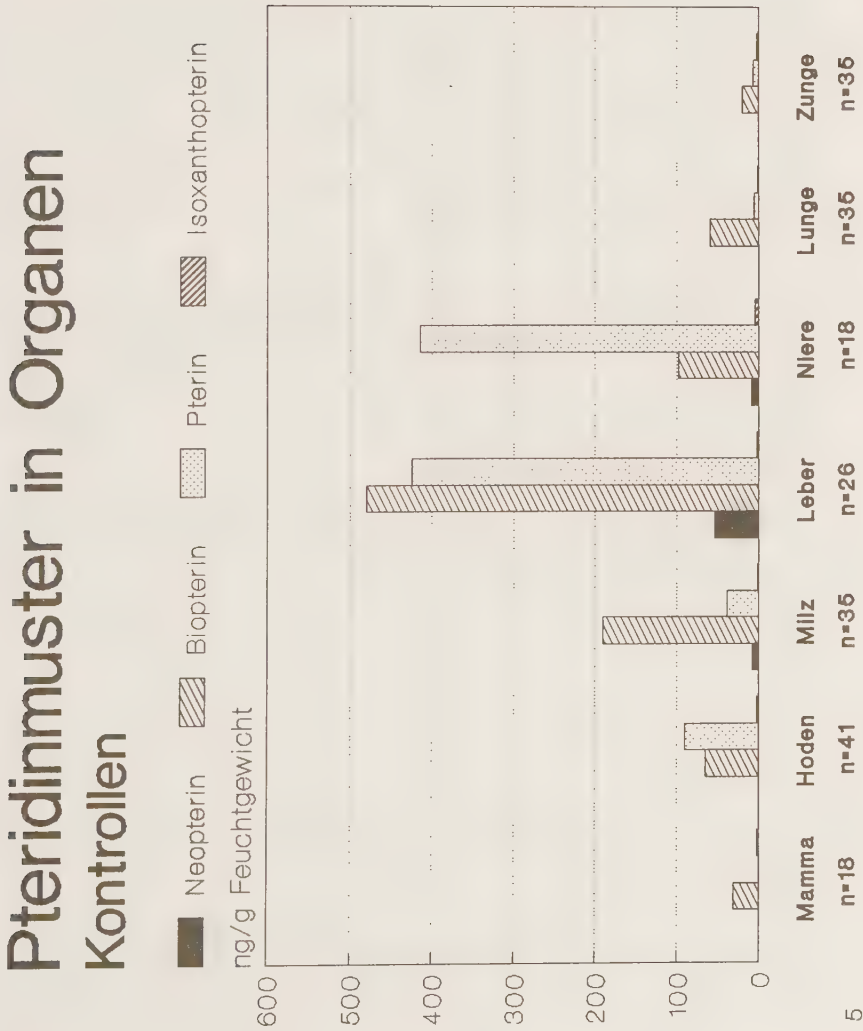


Abb. 5

4.6. Pteridinkonzentrationen in Tumoren und Tumorperipherien

4.6.1. Mammatumoren

Die zahlenmäßig stärkste Gruppe von Tumoren stellte, wie auch in der laufenden Statistik über Neoplasien der Hündin im mittleren und höheren Alter, die der Mammatumoren dar. In Mammatumoren von 31 Hündinnen (9 Mischtumoren, 13 Adenokarzinomen, 9 Mischtumoren und Adenokarzinomen) konnten Biopterin, Isoxanthopterin und im Gegensatz zum Mammakontrollgewebe, Pterin nachgewiesen werden.

Die unmittelbare Peripherie (makroskopisch noch unverändertes Mammagewebe) des Tumors zeigte ein Pteridinmuster gleich dem Tumor und abweichend vom Kontrollgewebe. So konnte im peripheren Gewebe, im Gegensatz zu den Kontrollen Pterin nachgewiesen werden. Der Biopteringehalt war gegenüber dem im Kontrollgewebe erhöht.

Beim Vergleich aller Mammatumoren mit der entsprechenden Peripherie traten Unterschiede weder im Pteridinmuster noch in den Konzentrationen auf.

Tab. 7:

Pteridinkonzentrationen in Mammatumoren in ng/g Feuchtgewicht im Vergleich zur Peripherie von Mammatumoren und gesundem Mammagewebe (Kontrollen) ($\bar{x} \pm SD$):

	Neopterin	Biopterin	Pterin	IXPT
=====				
I. Mammakontrollen		30,8		1,40
(n = 18)	n.m.		n.m.	
SD		$\pm 14,8$		$\pm 0,77$
=====				
II. Mammatumoren		66,3	23,3	2,11
(n = 31)	n.m.			
SD		$\pm 29,4$	$\pm 19,8$	$\pm 0,96$
=====				
III. Peripherie		66,1	22,4	4,38
(n = 20)	n.m.			
SD		$\pm 35,4$	$\pm 14,8$	$\pm 3,90$
=====				
Signifikanz I/II	n.s.	$p < 0,001$	sign.	n.s.
=====				
Signifikanz I/III	n.s.	$p < 0,001$	sign.	n.s.
=====				
Signifikanz II/III	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
=====				

n.m. = nicht meßbar

n.s. = nicht signifikant

sign. = signifikant

Nach den pathologisch-histologischen Gutachten sind die 31 Mammatumoren in 3 größere Gruppen einzuteilen:

Ia. Mischtumoren (n = 9)

Ib. Mischtumoren und Adenokarzinome bei demselben Tier (n = 9)

II. Adenokarzinome (n = 13)

Zwischen den Gruppen Ia und Ib konnten keine Unterschiede in den Pteridinkonzentrationen festgestellt werden, so daß diese in eine Gruppe I (a und b) zusammengefaßt werden konnten (Tab. 8):

Tab. 8:

Pteridinkonzentrationen in Mischtumoren und Adenokarzinomen der Mamma (Gruppe I (a und b)) im Vergleich zu reinen Adenokarzinomen der Mamma (Gruppe II) in ng/g Feuchtgewicht ($\bar{x} \pm SD$):

	Neopterin	Biopterin	Pterin	IXPT
=====				
Gruppe I (a und b)		57,1	18,0	1,86
(n = 18)	n.m.			
SD		$\pm 27,3$	$\pm 20,0$	$\pm 0,77$
=====				
Gruppe II		78,0	30,0	2,10
(n = 13)	n.m.			
SD		$\pm 29,0$	$\pm 18,0$	$\pm 1,00$
=====				
Signifikanz	n.m.	p<0,025	n.s.	n.s.
=====				

n.m. = nicht meßbar

n.s. = nicht signifikant

Aus der Tabelle 8 wird ersichtlich, daß zwischen Gruppe I (a und b) und II ein signifikanter Unterschied im Biopterin-gehalt besteht. Der Biopterin-gehalt ist in reinen Adenokarzinomen der Mamma (Gruppe II) gegenüber den Mischtumoren, bei denen sowohl Mischtumoren als auch Adenokarzinome beim selben Tier zu finden waren, deutlich erhöht. Pterin und Isoxanthopterin ergeben statistisch keine Unterschiede. Die Pterinwerte in diesen Tumoren sind durch breit gestreute Werte gekennzeichnet.

Das tumorumliegende Mammagewebe zeigt in den beiden Gruppen I und II keine statistischen Unterschiede und kann somit zu einer Gruppe zusammengefaßt werden.

Abb. 6: Pteridinmuster von 31 Mammatumoren im Vergleich zu Tumorperipherie und Kontrollmamma in ng/g Feuchtgewicht:

Pteridinmuster im Mammagewebe Kontrolle - Tumor - Peripherie (Mischtumoren und Adenokarzinome)

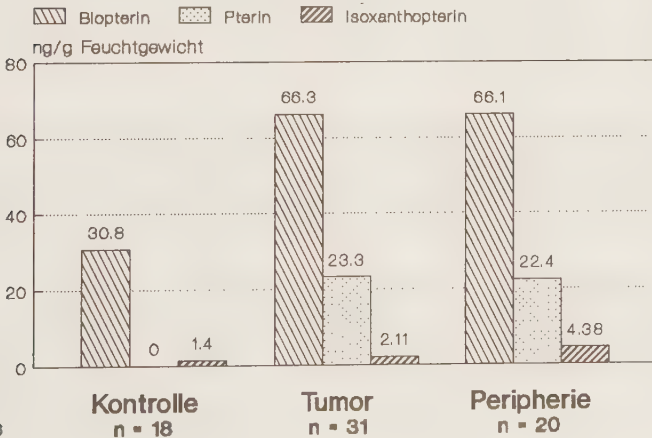


Abb. 8

4.6.2. Hodentumoren

Unter den bei älteren Rüden relativ häufig auftretenden Hodentumoren überwiegen die Leydigischen Zwischenzelladenome, so auch bei unseren 11 untersuchten Hodentumoren, die aus 6 Leydigischen Zwischenzelltumoren, 3 Sertolizelltumoren und zwei Seminomen bestanden. Wegen der übereinstimmenden Pteridingehalte von Sertolizelltumoren und Leydigischen Zwischenzelltumoren wurden diese in eine Gruppe ($n = 9$) zusammengefaßt.

Eine Ausnahme stellten zwei Seminome mit 74 ± 2 ng Biopterin /g Feuchtgewicht dar, so daß diese nicht in die oben genannte Gruppe aufgenommen werden konnten. Der Pterin- und Isoxanthopteringehalt war in diesen Seminomen gleich dem der anderen Hodentumoren (Tab. 9). Der Biopteridgehalt dieser beiden Seminome wies jedoch im Vergleich zu den Sertolitumoren und Leydigischen Zwischenzelltumoren wesentlich höhere Konzentrationen auf und war sogar gegenüber den Kontrollhoden erhöht.

Die Biopterin- und Pterinwerte von Leydigischen Zwischenzelltumoren und Sertolizelltumoren sind gegenüber dem Hodenkontrollgewebe signifikant erniedrigt. Pterin konnte nur in 8, Isoxanthopterin nur in 7 Proben nachgewiesen werden.

Neben den Tumorproben konnte in 6 Fällen (von 4 Leydigischen Zwischenzelltumoren und 2 Sertolizelltumoren) vom gleichen Hoden makroskopisch unverändertes Hodengewebe (Restparenchym) entnommen werden (sog. "peripheres Gewebe" bzw. "Tumorperipherie"). Dieses Restparenchym war nach den histologischen Gutachten stets atrophisch, wies aber das gleiche Pteridinemuster und ähnlich hohe Biopterin- und Isoxanthopteringehalte wie die Kontrollhoden auf.

Tab. 9:

Pteridinkonzentrationen in Hodentumoren (6 Leydigsche Zwischenzelltumoren und 3 Sertolizelltumoren) in ng/g Feuchtgewicht im Vergleich zu peripherem Hodengewebe und zu gesundem Kontrollhoden ($\bar{x} \pm SD$):

	Neopterin	Biopterin	Pterin	IXPT
=====				
I. Hodenkontrollen		66,1	99,0	1,78
(n = 41)	n.m.			
SD		$\pm 16,1$	$\pm 46,0$	$\pm 0,54$
=====				
		(n = 9)	(n = 8)	(n = 7)
II. Hodentumoren		30,8	47,3	2,70
(n = 9)	n.m.			
SD		$\pm 11,1$	$\pm 46,0$	$\pm 1,30$
=====				
		(n = 6)	(n = 4)	(n = 5)
III. Peripherie		52,2	52,0	1,26
(n = 6)	n.m.			
SD		$\pm 13,0$	$\pm 10,0$	$\pm 0,20$
=====				
Signifikanz I/II	n.s.	p<0,005	p<0,005	p<0,005
=====				
Signifikanz I/III	n.s.	n.s.	+n.s.	n.s.
=====				
Signifikanz II/III	n.s.	p<0,005	n.s.	+n.s.
=====				

n.m. = nicht meßbar

n.s. = nicht signifikant

+ = zu kleine n-Anzahl

Abb. 7: Pteridinmuster in Hodentumoren im Vergleich zu Tumorperipherie und Hodenkontrollen in ng/g Feuchtgewicht:

Pteridinmuster im Hodengewebe

Kontrolle - Tumor - Peripherie

(6 Leydig- und 3 Sertolizelltumoren)

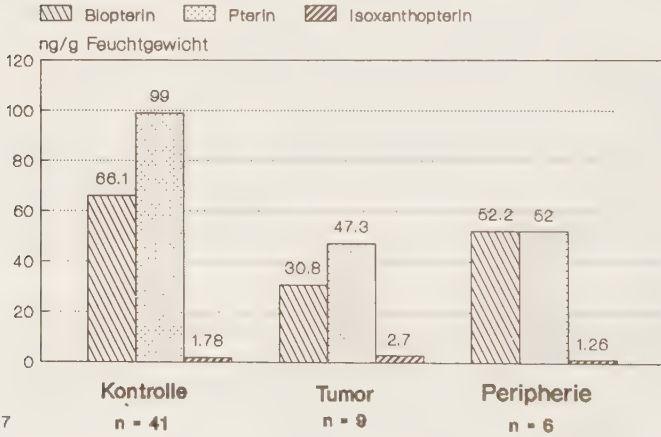


Abb. 7

4.6.3. Milztumoren

Zum untersuchten Patientenbestand gehörten auch 9 Hämatome auf Basis maligner Hämangioendotheliome der Milz. Diese Milztumoren waren stets sehr brüchig, in allen Fällen konnte aber auch hier von der makroskopisch noch unveränderten Milz (Tumorperipherie) eine Probe entnommen werden. Bei einem Vergleich des Tumors mit der Tumorperipherie ($n = 6$) fällt auf (Tab. 10), daß in den Tumoren Biopterin stark erniedrigt ist und Pterin bis auf 3 Proben (sehr geringe Werte, wurden vernachlässigt) ganz fehlt. Isoxanthopterin ist in beiden Gruppen zu gleichen Anteilen enthalten, während Neopterin in beiden Gruppen nur vereinzelt zu finden war, aber wegen zu geringen Konzentrationen vernachlässigt werden mußte.

Vergleicht man die 9 Milztumoren mit gesunder Kontrollmilz ($n = 35$) so fällt auf, daß Biopterin in den Tumoren signifikant erniedrigt ist und Pterin nur in den Kontrollen auftritt. Demgegenüber ist jedoch Isoxanthopterin im Tumor signifikant erhöht (Tab. 10).

Auch zwischen der Milzperipherie und den Kontrollmilzen bestehen Unterschiede in den Pteridinkonzentrationen. So ist in der Peripherie Biopterin und Isoxanthopterin gegenüber den Kontrollen signifikant erhöht, und Pterin erniedrigt.

Tab. 10:

Pteridinkonzentrationen in Milztumoren in ng/g Feuchtgewicht im Vergleich zu Milzperipherie und Milzkontrollen ($\bar{x} \pm SD$):

	Neopterin	Biopterin	Pterin	IXPT
=====				
I. Milzkontrollen		191,0	38,0	0,76
(n = 35)	n.m.			
SD		$\pm 54,0$	$\pm 15,0$	$\pm 0,19$
=====				
II. Milztumoren		63,0		2,80
(n = 9)	n.m.		n.m.	
SD		$\pm 34,5$		$\pm 1,10$
=====				
III. Peripherie		366,0	16,0	2,00
(n = 6)	n.m.			
SD		$\pm 217,0$	$\pm 9,0$	$\pm 1,30$
=====				
Signifikanz I/II	n.s.	p<0,001	sign.	p<0,001
=====				
Signifikanz I/III	n.s.	p<0,01	p<0,01	p<0,001
=====				
Signifikanz II/III	n.s.	p<0,001	sign.	n.s.
=====				

n.m. = nicht meßbar

n.s. = nicht signifikant

sign.= signifikant

Abb. 8: Pteridinmuster in Milztumoren im Vergleich zu Tumorpheripherie und Kontrollmilzen in ng/g Feuchtgewicht:

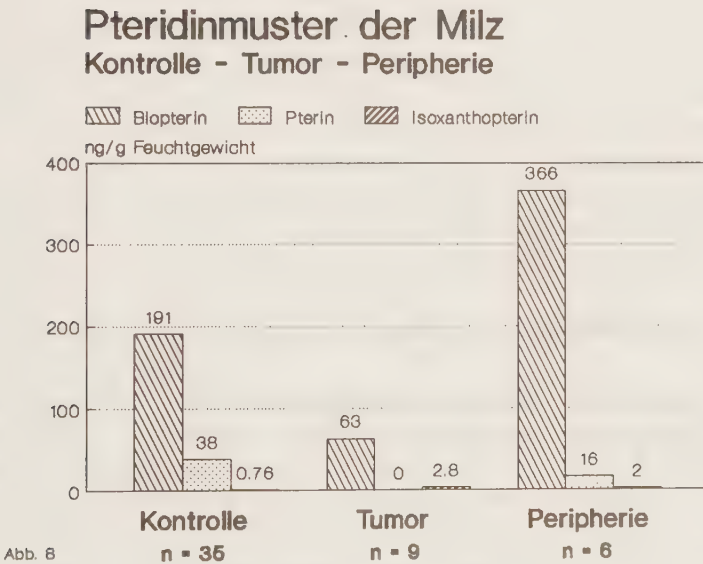


Abb. 8

4.6.4. Maligne Melanome

Im untersuchten Patientengut befanden sich 4 Hunde, bei denen maligne Melanome am Zungengrund entfernt wurden. Aufgrund dieser Lokalisation wurde als Kontrollgewebe zu diesem Tumor die Zungenmuskulatur verwendet. Dieser sehr maligne wachsende Tumor der Pigmentzellen zeigte sehr hohe Bioplerinwerte, aber keine meßbaren Neopterinspiegel (Tab. 15).

Tab. 15:

Pteridinkonzentrationen in malignen Melanomen der Zungenschleimhaut in ng/g Feuchtwicht im Vergleich zu Zungenkontrollgewebe ($\bar{x} \pm SD$):

	Neopterin	Biopterin	Pterin	IXPT
Zungenkontrollen	n.m.	19,8	6,7	1,32
SD (n = 35)		$\pm 6,0$	$\pm 3,0$	$\pm 0,48$
Melanome (n = 4)	n.m.	216,2	5,0	1,45
SD		$\pm 116,7$	$\pm 1,0$	$\pm 0,40$
Signifikanz	n.s.	$p < 0,001$	n.s.	n.s.

n.m. = nicht meßbar

n.s. = nicht signifikant

4.6.5. Perianaldrüsentumoren

Die nur beim Hund vorkommenden hepatoiden Perianaldrüsen sind bei Rüden sehr häufig tumorös entartet, meist aber benignen Natur. Unter den 12 untersuchten Tumoren befanden sich 10 benigne Adenome hepatoider Drüsen und 2 Adenokarzinome.

In allen Perianaltumoren war neben Biopterin, Pterin und Isoxanthopterin auch Neopterin enthalten (Tab. 11).

Tab. 11:

Pteridinkonzentrationen in Perianaltumoren in ng/g Feuchtwicht ($\bar{x} \pm SD$):

	Neopterin	Biopterin	Pterin	IXPT
Perianaltumoren	16,0	38,4	21,0	1,14
(n = 12)				
SD	$\pm 2,8$	$\pm 13,0$	$\pm 7,0$	$\pm 0,41$

4.6.6. Lipome

Im subkutanen Fettgewebe adipöser Hunde entwickeln sich nicht selten benigne Lipome, die auch zu größeren Geschwülsten heranwachsen können. In den 7 untersuchten Lipomen konnten nur Biopterin in relativ niedriger Konzentration und Isoxanthopterin ermittelt werden (Tab. 12).

Tab. 12:

Pteridinkonzentrationen in Lipomen in ng/g Feuchtwicht ($\bar{x} \pm SD$):

	Neopterin	Biopterin	Pterin	IXPT
Lipome		10,9		1,48
(n = 7)	n.m		n.m.	
SD		$\pm 5,8$		$\pm 0,41$

n.m. = nicht meßbar

4.6.7. Osteosarkome

Insgesamt konnten 4 Osteosarkome untersucht werden, davon befanden sich zwei in der Nasenscheidewand und die anderen am Auge und am Unterkiefer. In allen Proben war Biopterin und Isoxanthopterin zu finden, wohingegen Neopterin in keiner und Pterin nur in zwei Proben enthalten waren (Tab. 13).

Tab. 13:

Pteridinkonzentrationen in Osteosarkomen in ng/g Feuchtgewicht ($\bar{x} \pm SD$):

	Neopterin	Biopterin	Pterin	IXPT
		(n = 4)	(n = 2)	(n=4)
Osteosarkome		35,0	33,5	1,60
(n = 4)	n.m			
SD		$\pm 16,0$	$\pm 15,5$	$\pm 0,62$

n.m. = nicht meßbar

4.6.8. Mastzellentumoren

Unter Hauttumoren ist der Mastzellentumor vor allem bei älteren Hunden der häufigste und gilt als potentiell maligne. In Mastzellentumoren wurden bereits Virus-ähnliche Partikel gefunden (DAHME und WEISS, 1983), so daß eine Virus-ätiologie möglich erscheint. Biopterin zeigte in diesen Geschwülsten hohe Werte, Neopterin und Pterin konnten jedoch nicht gefunden werden (Tab. 14).

Tab. 14:

Pteridinkonzentrationen in Mastzellentumoren in ng/g Feuchtgewicht ($\bar{x} \pm SD$):

	Neopterin	Biopterin	Pterin	IXPT
Mastzellentumoren		96,6		2,09
(n = 4)	n.m		n.m.	
SD		$\pm 16,2$		$\pm 0,69$

n.m. = nicht meßbar

4.6.9. Pteridine im Überblick

Einen zusammenfassenden Überblick über die Veränderung des Pteridinmusters bei den verschiedenen Tumoren und peripheren Geweben gegenüber dem Kontrollgewebe und die verschiedenen Pteridinkonzentrationen in ng/g Feuchtgewicht in Organen von Beaglehunden zeigt Tabelle 16:

Tab. 16:

		Neopterin	Biopterin	Pterin	IXPT
Mammagewebe	n.m.	30,8 ±14,8	n.m.	1,40 ±0,77	
Mammatumoren	n.m.	***66,3 ±29,4	23,3 ±19,8	2,11 ±0,96	
Tumorperipherie	n.m.	***66,1 ±35,4	22,4 ±14,8	4,38 ±3,90	
Hodengewebe	n.m.	66,1 ±16,1	99,0 ±46,0	1,78 ±0,54	
Hodentumoren	n.m.	**30,8 ±11,1	**47,3 ±46,0	**2,70 ±1,30	
Tumorperipherie	n.m.	52,2 ±13,0	52,0 ±10,0	1,26 ±0,20	
Milzgewebe	7,8 ±2,7	191,0 ±54,0	38,0 ±15,0	0,81 ±0,20	
Milztumoren	n.m.	***63,0 ±32,5	n.m.	***2,80 ±1,10	
Tumorperipherie	n.m.	*366,0 ± 217	*16,0 ± 9,0	***2,00 ±1,30	
Zungenkontrollen	n.m.	19,8 ± 6,8	6,7 ± 3,0	1,32 ±0,48	
Melanome	n.m.	***216,2 ±116,7	5,0 ± 1,0	1,45 ±0,40	
Perianaltumoren	16,0 ±2,8	38,4 ±13,0	21,0 ± 7,0	1,14 ±0,41	
Lipome	n.m.	10,9 ± 5,8	n.m.	1,48 ±0,41	
Osteosarkome	n.m.	35,0 ±16,0	33,5 ±15,5	1,60 ±0,62	
Mastzellentumoren	n.m.	96,6 ±16,2	n.m.	2,09 ±0,69	
Leber	54,0 ±16,0	480,0 ±103,0	425,0 ±152,0	2,30 ±1,00	
Nierenrinde	8,7 ±7,9	97,3 ± 34,2	415,0 ± 74,0	4,30 ±1,20	
Lunge	n.m.	59,0 ± 12,0	5,0 ± 1,6	1,13 ±0,51	

n.m. = nicht meßbar

*** = Signifikanz gegenüber Kontrollen: p < 0,001

** = Signifikanz gegenüber Kontrollen: p < 0,005

* = signifikant gegenüber Kontrollen: p < 0,01

Pteridinmuster in Tumoren

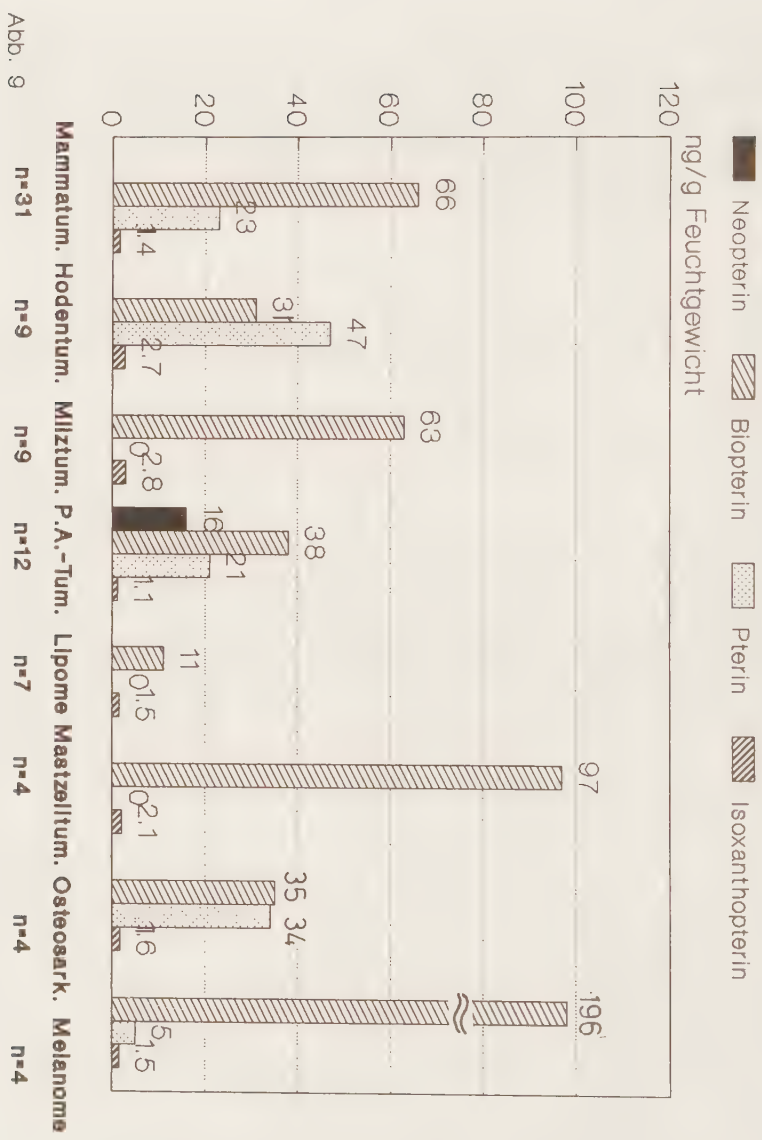


Abb. 9: Pteridinmuster in Tumoren

5. DISKUSSION

In Organen von Hunden wurden die Pteridinmuster- und konzentrationen fünf unkonjugierter Pteridine (Neopterin, Biopterin, 6-Hydroxymethylpterin, Pterin und Isoxanthopterin) und deren Veränderung bei verschiedenen Neoplasien bestimmt. Reduzierte Pteridine, die entweder in der Dihydro- oder Tetrahydroform im Gewebe vorkommen, wurden vor der Analyse einer sauren Oxidation unterzogen, so daß in dieser Arbeit Unterschiede zwischen den verschiedenen Oxidationsstufen nicht berücksichtigt sind.

5.1. Gründe für die Veränderungen von Pteridinkonzentrationen im Gewebe

Die Ursachen für die veränderten Pteridingehalte im Tumorgewebe sind noch nicht endgültig geklärt. Die bisherigen Theorien stützen sich auf zwei unterschiedliche Ansatzpunkte, den Nukleotidstoffwechsel und das zelluläre Immunsystem.

Ein Zusammenhang zwischen Pteridinen und dem Nukleotidmetabolismus wurde angenommen, nachdem die Konzentrationen von GTP, dem Precursor der Pteridine, in transplantierten Tumoren mit Tumorstadium und Malignität und in Zellkulturen mit Proliferation korrelieren (KRAML et al., 1976). Hohe Pteridinkonzentrationen im Gewebe können deshalb eine Konsequenz hoher GTP-Spiegel sein, wobei verschiedene Proliferationsraten der Tumoren unterschiedlich hohe GTP-Werte zur Folge haben. Dies würde sehr gut die Unterschiede in den Pteridinmengen bei den verschiedenen Tumoren erklären. Daneben berichteten WILLIAMS et al. (1978), daß die Aktivität der Cytosintriphosphat (CTP)-Synthetase, das limitierende

Enzym in der CTP-Bioynthese der Leber, bei allen schnellwachsenden Tumoren erhöht sei. Auch die erhöhten Enzymaktivitäten der Adenosinmonophosphat-Desaminase und Inosinmonophosphat (IMP)-Dehydrogenase, die im Zusammenhang mit Proliferation und Malignität von Tumorzellen stehen (JACKSON und WEBER, 1975), führen zu einer größeren IMP-Bildungskapazität und zu dessen Verwendung in der de novo Biosynthese von GTP.

WACHTER et al. (1980) bezeichneten GTP sogar als den Hauptkontrolleur der Zellproliferation und schlossen daraus, daß die Umwandlung von GTP in Pteridine der Weg ist, die GTP-Konzentrationen zu regulieren. Inwieweit die Pteridine selbst die Zellproliferation bewirken können, ist noch ungeklärt.

Parallel zur Theorie des veränderten Nukleotidstoffwechsels in proliferierenden und malignen Zellen, als Ursache erhöhter Pteridinkonzentrationen, beobachtete man, daß die erhöhten Pteridinwerte vor allem mit der Proliferation und Differenzierung von T-Lymphozyten in Zusammenhang stehen. Die im entarteten Gewebe zu findenden T-Lymphozyten (IOACHIM, 1976) reagieren gegen fremde Oberflächenstrukturen (Tumorantigene) und erhalten die Selbstintegrität des Organismus. Die bisherigen Forschungen konzentrierten sich vor allem auf das Neopterin und ergaben, daß durch die Vermittlung des Interferon-Gamma von Makrophagen Neopterin produziert wird (HUBER et al., 1984 und 1987). Interferon-Gamma ist befähigt, die Enzymaktivität von GTP-CH I zu steigern, wodurch es zu einer intrazellulären Anhäufung mit anschließender Freigabe von Neopterin kommt (TROPPMAIR et al., 1985). Daneben konnten ZIEGLER et al. (1987) auch einen Anstieg von Biopterin, 6-Formylpterin und 6-Hydroxymethylpterin durch eine Lektinstimulation von Mäusemilzlymphozyten zeigen.

5.2. Pteridine in Organen gesunder Hunde

In der Literatur sind bisher nur die Neopterin- und Biopteringehalte in Organen von Hunden beschrieben worden (HÄBERLE et al., 1983; DUCH et al., 1984; HASLER und NIEDERWIESER, 1986; DHONDT et al., 1986). In der vorliegenden Arbeit sind neben den "Standardpteridinen" Neopterin und Biopterin auch 6-Hydroxymethylpterin, Pterin und Isoxanthopterin einbezogen worden (Abb. 1)..

6-Hydroxymethylpterin (6-HMPt) konnte in den untersuchten Organen nicht nachgewiesen werden. Auch GASSNER (1987) fand es im Harn von Hunden lediglich in Spuren. 6-HMPt spielt beim Hund offenbar im Gegensatz zum Menschen eine untergeordnete Rolle (GOLDBERG and BROWN, 1987; GOLDBERG et al., 1988).

Mit Ausnahme des Mammagewebes, in dem kein Pterin nachzuweisen war, konnte in allen Organen des Hundes Biopterin, Pterin und Isoxanthopterin in unterschiedlichen Konzentrationen gefunden werden.

Die nur in Leber, Milz und Niere nachweisbaren Neopterinkonzentrationen können nicht allein mit den Leukozyten/Makrophagen-Gehalten (HUBER et al., 1987) erklärt werden. In der Milz, als Produktionsstätte von Lymphozyten, ist weniger Neopterin enthalten als vergleichsweise in der Leber. Deshalb muß der Leber, Milz und Niere im Gegensatz zu den anderen untersuchten Organen, die Fähigkeit der Neopterinsynthese zugesprochen werden.

Die auffällig hohen Biopterinspiegel in Leber und Milz, die gut mit Vergleichswerten in der Literatur übereinstimmen (siehe oben), weisen auf eine hohe Syntheserate und damit

möglicherweise auf eine noch unbekannte Funktion von Biopterin in diesen Organen hin. Auch der hohe Blutanteil in Milz und Leber sowie der relativ hohe Leukozytengehalt (Malpighische Körperchen) in der Milz, können die hohen Biopterinwerte nicht erklären. Gegenüber Vollblut bzw. in dessen Zellanteil sind in der Milz und Leber die neun- bzw. vierundzwanzigfachen Biopteriningehalte zu messen (DUCH et al., 1984; ZIEGLER et al., 1982), so daß der Blutanteil in diesen Organen nicht die hohen Biopterinkonzentrationen verursachen kann. Aus diesen Gründen sind die Pteridinmuster und -konzentrationen überwiegend Produkte der Organgewebe selbst und nicht durch die Anwesenheit anderer und dabei übereinstimmender Systeme in den verschiedenen Geweben zu erklären.

Die hohen Pteriningehalte in Leber, Niere, Hoden und Milz weisen auch auf einen erhöhten Pteridinkatabolismus in diesen Organen hin, da Pterin vor allem durch den vermehrten Abbau von Neopterin und Biopterin entsteht. Der hohe Gehalt kann aber auch ein "Kunstprodukt" der Aufarbeitungsmethode sein, da bei der sauren Oxidation Pterin aus Folsäure gebildet werden kann. Der Folsäureanteil in den Proben ist nicht untersucht worden.

Das in allen Proben bestimmte Isoxanthopterin (IXPt), welches durch die Xanthinoxidase (FORREST et al., 1956) aus Pterin entsteht und Endprodukt des Pteridinkatabolismus ist, zeigt in allen Organen, mit Ausnahme der Niere, etwa gleich niedere Werte, so daß ein zu erwartendes konstantes Pterin-/IXPT-Verhältnis (vgl. Pteridinkatabolismus 2.3.2.) nicht festgestellt werden kann. Der relativ hohe IXPt-Gehalt in der Nierenrinde könnte bei dem hohen Pteriningehalt auf eine erhöhte XDH-Aktivität in diesem Organteil zurückzuführen sein, da Pterin auch durch die XDH zu IXPt hydroxyliert wird (BERGMANN und KWIETNY, 1958).

5.3. Pteridinveränderungen bei verschiedenen Neoplasien des Hundes

Nachdem als Folge verschiedener Neoplasien bei Mensch, Ratte und Hund (WACHTER et al., 1979; ROKOS et al., 1983; KOKOLIS und ZIEGLER, 1977; GOLDBERG et al., 1987) quantitative Veränderungen der Pteridinausscheidungen im Urin festgestellt wurden, sollten die Pteridingehalte im Tumorgewebe selbst und im den Tumor umgebenden "peripheren" Gewebe bestimmt werden, um Hinweise auf den Ursprung der erhöhten Harnpteridine zu bekommen. Das Pteridinmuster der entsprechenden Kontrollen für Mamma-, Hoden- und Milztumoren sowie für Melanome wurde bereits im Abschnitt 3.1. (Pteridine in Organen gesunder Hunde) besprochen. Für die Perianaltumoren, Mastzellentumoren, Lipome und Osteosarkome mußte auf ein entsprechendes Kontrollgewebe verzichtet werden.

Neben dem Tumor selbst, konnte bei Mamma-, Hoden- und Milztumoren das den Tumor umgebende, noch nicht entartete Organgewebe (peripheres Gewebe) entnommen und der Pteridingehalt bestimmt werden. Dies war von den ebenfalls untersuchten Perianaltumoren, Lipomen, Mastzellentumoren, Osteosarkomen und Melanomen aufgrund deren Tumormorphologie nicht möglich.

Neuere Untersuchungen zeigen, daß beim Hund wesentlich mehr Biopterin in Harn, Serum und Blutzellen enthalten ist als beim Menschen (GOLDBERG et al., 1987; DUCH et al., 1984; ZIEGLER et al., 1982). Dies bedeutet, daß die beim Menschen gewonnenen Erkenntnisse über die Harn-, Serum- und Zellpteridingehalte nur bedingt auf den Hund übertragen werden können. So scheint dem Biopterin in der Tiermedizin eine größere Bedeutung zuzukommen als in der Humanmedizin. Im Gegensatz zum Menschen war 6-Hydroxymethylpterin in den untersuchten Tumorphomogenaten von Hundetumoren nicht enthalten.

STEA et al. (1978) haben bei malignen Zellen in vitro eine vermehrte 6-HMPT-Exkretion beschrieben, die sie auf einen Folsäurekatabolismus zurückführten. Entsprechende Untersuchungen liegen für den Hund noch nicht vor.

5.3.1. Mammatumoren

Die Vermutung, daß im Tumorgewebe oder in der Tumorperipherie aufgrund der dort stattfindenden lokalen Abwehrreaktionen des Körpers mit T-Lymphozyten, Makrophagen und Plasmazellen (IOACHIM, 1976) ein erhöhter Pteridingehalt zu finden ist, bestätigte sich nur teilweise, so z.B. in den Mammatumoren. Gegenüber den Mammakontrollen war der Biopterin- und Pteringehalt in Mammatumoren und Tumorperipherie (Mischtumoren und Adenokarzinome) signifikant erhöht.

Adenokarzinome des Mammarydrüsenorgans wiesen im Vergleich zu den Mischtumoren noch höhere Pteridinwerte auf. Dies könnte ein Hinweis auf die Aktivität bzw. auf die hohe Mitoserate der malignen Adenokarzinome sein. Schon vor einigen Jahren wurde nämlich bekannt, daß es bei normaler wie auch bei maligner Zellproliferation zur Anhäufung von Biopterin kommt (WACHTER et al., 1980; ZIEGLER et al., 1982a und 1982b).

Im Vergleich zum Kontrollgewebe weisen die doppelt so hohen Biopterinkonzentrationen und das zusätzliche Auftreten von Pterin in der Tumorperipherie sowohl auf einen erhöhten Pteridinanabolismus als auch -katabolismus in der Tumorperipherie hin. Der Grund hierfür kann in den in das betroffene Gewebe eingewanderten Abwehrzellen liegen.

Die fast identisch erhöhten Pteridinkonzentrationen der Tumorperipherie und des Tumors unterstreichen den aktivierten Pteridinstoffwechsel im entarteten und in dem den Tumor umgebenden Mammagewebe.

5.3.2. Hodentumoren

Unterschiedliche Pteridinbefunde weisen die Hodentumoren auf. Im Vergleich zu Hodenkontrollgewebe ist bei den Leydig- und Sertolizelltumoren keine Veränderung des Pteridinmusters zu beobachten, wohl aber ein signifikanter Abfall an Biopterin und Pterin. Dies kann Ausdruck der Inaktivität der zerstörten Parenchymzellen und deren Nekrose sein.

Die in etwa gleichen Pteridinkonzentrationen in Hodenkontrollgewebe und Tumorperipherie (Restparenchym) weisen auf einen ähnlichen Zellzustand beider Gewebe hin. Da dieses Restparenchym stets atrophisch war und gut von dem Tumor getrennt werden konnte, kann daraus abgeleitet werden, daß atrophisches Hodengewebe nicht zu einer Veränderung der Pteridinkonzentrationen führt.

Die beiden malignen Seminome dagegen enthalten höhere Biopterinkonzentrationen als die oben besprochenen Hodentumoren und die Kontrollgewebe. Dies könnte die Ursache in der starken Vaskularisierung und Proliferation der Seminome sowie in der hohen Lymphozyteninfiltration dieser Tumoren (JOEST, 1985) haben. Lymphozyten enthalten beim Hund nicht unerhebliche Mengen an Biopterin (ZIEGLER et al., 1986).

5.3.3. Milztumoren

Ein anderes Pteridinmuster wiederum ist bei Milztumoren zu finden, die, im Gegensatz zu Tumorperipherie und Kontrollmilz, kein Pterin enthalten und deutlich verminderte Biopterinergehalte aufweisen. Da diese Tumoren Hämatome auf Basis maligner Hämangioendotheliome waren, könnte ein Vergleich dieser Pteridinwerte mit denen von Vollblut eine Erklärung für die relativ niederen Biopterinwerte im Tumor geben. In der Literatur sind sehr unterschiedliche Pteridinkonzentra-

tionen im Vollblut angegeben (ZIEGLER et al., 1982b; DUCH et al., 1984), die jedoch aus der Verwendung des Crithidia-Nachweises durch ZIEGLER und der HPLC-Methode durch DUCH resultieren. Eigene Werte über die Pteridinkonzentrationen im Vollblut von Hunden stehen zu diesem Zeitpunkt noch nicht zur Verfügung.

Die gegenüber gesunder Kontrollmilz erhöhten Pterin- und Isoxanthopterinkonzentrationen in der Tumorperipherie und die vermehrte IXPt-Konzentration im Tumor weisen auf einen erhöhten Pteridinkatabolismus in diesen Geweben hin (REMBOLD et al., 1969).

Die doppelt so hohen Biopterinwerte der Tumorperipherie gegenüber gesunder Kontrollmilz oder die noch höheren gegenüber den Tumoren können Ausdruck einer erhöhten Lymphzellreaktion in dem den Tumor umgebenden Gewebe sein, die mit dem Ziel erfolgt, die weitere Ausbreitung des Tumors zu verhindern. Daneben könnte sie Folge einer Aktivierung des Pteridinanabolismus der Milzzellen in Tumornähe sein. Eine Isolierung und getrennte Pteridinbestimmung von Milz- und Immunzellen in der Tumorperipherie könnte hier Aufschluß bringen.

5.3.4. Maligne Melanome

Der in malignen Melanomen im Vergleich zur Zungenmuskulatur zehnfach erhöhte Biopterinegehalt weist auf eine gesteigerte Biopterinsynthese in den Tumorzellen selbst hin, da in der Literatur kein Hinweis auf größere Lymphzellinfiltrationen zu finden ist. Diese sehr bösartigen und sich schnell ausbreitenden Tumoren der Pigmentzellen waren am Zungengrund lokalisiert.

5.3.5. Perianaltumoren, Mastzellentumoren, Lipome und Osteosarkome

Da zu diesen untersuchten Tumoren kein Kontrollgewebe zu gewinnen war, können nur deren Pteridinmuster und unterschiedlichen -konzentrationen betrachtet werden. Analog zu den Mamma- und Milztumoren ist auch in den Lipomen und Mastzellentumoren kein Pterin enthalten. Da Pterin unabhängig von Biopteringehalten in einigen Tumoren in sehr hohen Mengen vorliegt, in anderen aber trotz hoher Biopterinwerte (Mastzellentumoren) ganz fehlen kann, besteht ein Mißverhältnis zum Pteridinkatabolismus (vgl. Pteridinkatabolismus 2.3.2.). Auf die Pterinentstehung aus Folsäure durch die saure Aufarbeitung als mögliche Erklärung wurde bereits hingewiesen.

Interessanterweise konnte, mit Ausnahme der Perianaltumoren, in keinem der hiergenannten Tumoren Neopterin nachgewiesen werden. GOLDBERG et al. (1988) berichteten bereits über eine erhöhte Neopterinexkretion im Harn von Hunden mit Perianaltumoren, gutartigen Hauttumoren und einigen Karzinomen, konnten aber bei allen anderen Tumorarten, z.B. bei Mamma- oder Hodentumoren, keine erhöhte Neopterinexkretion messen. Diese Feststellung weist auf den Zusammenhang zwischen dem von Hunden mit Perianaltumoren renal sezernierten Neopterin und den Neopteringehalten in den Perianaltumoren hin.

5.4. Erhöhte Harnpteridinwerte nach Stoßwelleneinwirkungen auf Niere und Leber

Sowohl 24 h nach Nierenbeschallungen als auch 24 h nach Leberbeschallungen an Beaglehunden waren im Harn nur das Biopterin, nicht die anderen Pteridine signifikant erhöht. Die Ursache hierfür könnte in der durch die Stoßwellen bedingten Zerstörung bzw. in fokalen Läsionen von Parenchym-

zellen und damit der Freisetzung von enthaltenem Biopterin liegen. Gegen diese Vermutung spricht jedoch der Befund, daß trotz fünffacher Biopteriningehalte der Leber gegenüber der Niere nach Leberbeschallung nicht wesentlich höhere Harnbiopterinwerte als nach der Nierenbeschallung zu messen sind. Zudem wären auch erhöhte Neopterin-, Pterin- und IXPT-Harnspiegel zu erwarten, da durch die fokalen Zellnekrosen auch die in Leber und Niere enthaltenen Pteridine freigesetzt werden. Zumindest müßte bei der Nierenbeschallung aufgrund des sehr hohen Pteringehaltes der Niere im Verhältnis zum Biopteriningehalt ein signifikanter Anstieg an Pterin im Harn zu messen sein. Dies ist jedoch nicht der Fall. Nach DELIUS (persönliche Mitteilung, 1988) sind auch die durch die Stoßwellen verursachten fokalen Nekrosen nur vereinzelt, so daß das stark erhöhte Harnbiopterin dadurch nicht zu erklären ist.

Auch die durch die 1 Hz- Beschallungen verursachte leichte Hämolyse kann keinen eindeutigen Schluß auf die Ursache der vermehrten Biopterinexkretion geben, da die Hämolyse nur bei der schnelleren (15/100 Hz) Stoßwellenfrequenz hohe Werte erreichte, Biopterin jedoch sowohl bei der 1 Hz- als auch bei der 15/100 Hz-Beschallung vermehrt durch den Harn und in etwa gleichen Mengen ausgeschieden wurde.

Weiterhin bleibt abzuklären, inwieweit die vermehrte Pteridinexkretion nicht durch die körperliche Belastung der Tiere bei den vielen Manipulationen in dem langen Zeitraum (24 h) bis zur Harnprobenentnahme nach den Beschallungen verursacht wird. ROKOS und KUNZE (1987) berichteten in diesem Zusammenhang über einen erhöhten Serum-Neopterinspiegel durch körperliche Belastung beim Menschen. Ebenso ist bei Ratten mehrere Tage lang ein erhöhter Biopterinspiegel im Harn zu messen, wenn sie veränderten Haltungsbedingungen ausgesetzt werden (KOLLER, 1988). Beim Hund wurde zwar berichtet, daß Operationen und Narkosen keine veränderten

Pteridinoxkretionen zur Folge haben, doch sind diese Messungen stets unmittelbar nach den Operationen vorgenommen worden (GASSNER, 1987) und geben keinen Hinweis auf die Verhältnisse 24 h danach.

5.5. Schlußbemerkung

Biopterin ist bei Hunden sowohl in gesunden als auch in entarteten Geweben immer nachzuweisen und ist ein aussagekräftiger Parameter für die Aktivität des anabolen Pteridinstoffwechsels im Gewebe.

Insgesamt können mit Ausnahme der Milztumoren in malignen Tumoren, so in malignen, schnellwachsenden Adenokarzinomen der Mamma, in malignen Melanomen und in Seminomen erhöhte Biopterinspiegel gegenüber den entsprechenden Kontrollgeweben gefunden werden. Auch in den maligne zu betrachtenden Mastzellentumoren ist diese Feststellung zu treffen. Ob die Ursache für die hohen Biopterinkonzentrationen in den Tumorzellen selbst oder in den eingewanderten Abwehrzellen liegt, bleibt weiter zu untersuchen.

In den die Tumoren umgebenden Geweben, soweit solche entnommen werden konnten, sind die Biopterinkonzentrationen ebenfalls erhöht.

In Hämatomen auf Basis maligner Hämangioendotheliome der Milz und in Osteosarkomen sind trotz potentieller Malignität nur relativ niedrige Biopterinergehalte zu messen. Die Ursache hierfür kann im hohen Blutanteil dieser Tumoren liegen.

Die relativ niederen Biopterinwerte in den gutartigen Leydig- und Sertolizelltumoren, sowie den Perianaltumoren und Lipomen sprechen nicht für eine erhöhte Aktivität des anabolen Pteridinstoffwechsels in benignen Tumoren in Richtung Biopterin.

6. ZUSAMMENFASSUNG

1. Neopterin, Biopterin, 6-Hydroxymethylpterin, Pterin und Isoxanthopterin wurden in Organen des Hundes in ihren Konzentrationen und den sich daraus ergebenden Mustern sowie in ihrer renalen Ausscheidung durch HPLC bestimmt.
2. Gegenüber unbehandelten scheiden Hunde nach Stoßwelleneinwirkungen auf Leber oder Niere signifikant erhöhte Biopterinmengen im Harn aus. Die Menge steht in keiner Abhängigkeit zum Umfang verursachter Hämolyse. Gewebsveränderungen oder Reparaturvorgänge können verantwortlich sein.
3. Organe gesunder Hunde weisen bestimmte Pteridinmuster auf. Unterschiede zwischen gesunden Geweben verschiedener Organe lassen die Pteridine als Produkte des ihnen eigenen Pteridinstoffwechsels ansprechen.
4. Gegenüber Geweben unveränderter Organe enthalten Tumoren erhöhte oder erniedrigte Pteridinkonzentrationen. In maligne anzusprechenden Tumoren treten höhere Biopterinkonzentrationen auf.
5. In tumorangrenzenden Geweben können die Pteridinkonzentrationen von denen in gesunden und in Tumorgeweben abweichen.
6. Pteridinkonzentrationen und -muster sind abhängig von Faktoren der Tumorentwicklung, wie Dignität und Wachstum.
7. Es ist anzunehmen, daß in Tumoren und tumorumgebenden Geweben die Pteridinkonzentrationen und -muster weiter abhängig sind von der Durchblutung sowie der Infiltration und Masse von Abwehrzellen.

SUMMARY

Concentrations and Patterns of Pteridines in various Organs of Dogs and their Alterations with Tissue Damages and Neoplasias.

1. The concentrations and patterns of neopterin, biopterin, 6-hydroxymethylpterin, pterin and isoxanthopterin in the organs of dogs and their renal excretion were determined by HPLC.
2. In comparison to unattended controls, dogs treated with shock waves on liver or kidney excreted significant elevated biopterin values into the urine. The amount excreted is not dependent on the range of the haemolysis. Alterations of the tissues and repairing processes could be responsible for these changes.
3. Organs of healthy dogs show specific pteridine patterns. Differences between control tissues of various organs are the product of their typical pteridine metabolism.
4. In comparison to tissues of unaffected organs, the tumours result in increased or decreased pteridine concentrations. Malign tumours show elevated biopterin concentrations.
5. In tissues bordered to the tumour the pteridine concentrations deviate from the controls and the tumour tissues.
6. The concentrations and patterns of pteridines are dependent on factors of tumour development, like dignity and growth.
7. It is supposed that in tumours and in tissues bordered to the tumour the concentrations and patterns of pteridines are furthermore dependent on the blood circulation and on the infiltration and mass of defence cells.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- ABOU-DONIA, M.M., D.S. DUCH, D.A. NICHOL and G.H. VIVEROS (1982)
Hormonal Regulation of Guanosine Triphosphate Cyclohydrolase
Activity and Biopterin Levels in the Rat Adrenal Cortex.
Endocrinology, USA, 112, 2088-2094
- ABOU-DONIA, M.M., A.J. DANIELS, E.DILIBERTO JR., D.A. NICHOL
and G.H. VIVEROS (1985)
Endocrine and metabolic regulation of GTP-cyclohydrolase
activity and tetrahydrobiopterin levels in rat liver.
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol.4
(Eds.: W. Pfeleiderer, H. Wachter, H.Ch. Curtius)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 209-220
- ALBERT, A., D.J. BROWN and H.C.S. WOOD (1954)
Pteridine studies. Part V. The monosubstituted pteridines.
J. Chem. Soc., 3832-3839
- ANDONDONSKAIJA-RENZ, B. und H.-J. ZEITLER (1983)
Separation of Pteridines from Blood Cells and Plasma by
Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography.
Analytical Biochemistry 133, 68-78
- ANDONDONSKAIJA-RENZ, B. und H.-J. ZEITLER (1987)
Tetrahydrobiopterin Biosynthesis: Pterin metabolites in
cells of the blood system and of lymphoid tissues.
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 5
(Eds.: W Pfeleiderer, H. Wachter, J.A. Blair)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 83 - 96
- AULITZKY, W., J. FRICK, D. FUCHS, A. HAUSEN, G. KUNIT, G.
REIBNEGGER und H. WACHTER (1984)
Neopterin - ein neuer immunologischer Parameter für
maligne Tumoren des Urogenitaltrakts.
Österr. Gesellschaften für Biochemie und Klinische Chemie,
Bd. 365, 902
- BAILEY, S.W. and J.E. AYLING (1975)
High pressure liquid chromatographie of substituted
pteridines and tetrahydropteridines.
In: Chemistry and Biology of Pteridines
(Ed.: W. Pfeleiderer)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 633-644
- BERGMANN, F. and H. KWIETNY (1958)
Pterdines as substrates of mammalian xanthine oxidase.
Biochim. Biophys. Acta 28, 613-618
- BERGMANN, F. and H. KWIETNY (1959)
Pterdines as substrates of mammalian xanthine oxidase.
Pathways and rates of oxidation
Biochim. Biophys. Acta 33, 29-46

- BICHLER, A., H. HETZEL, C. MARTH, D. FUCHS, A. HAUSEN, G. REIBNEGGER and H. WACHTER (1982)
Significance of urinary neopterin in gynecology and obstetrics: oncology, pregnancy, amniotic fluid.
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 1 (Eds.: H. Wachter, H.Ch. Curtius and W. Pfeleiderer)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 141-156
- BLAIR, J. A. and J. GRAHEM (1960)
Identity of pteridines present in snake skins.
Chem. & Ind. 5, 1158-1159
- BLAKLEY, R.L. (1969)
Natural occurrence of pterines and folate derivatives.
In: The Biochemistry of Folic Acid and Related Pteridines, Frontiers of Biology, Vol. 13
(Eds.: A. Neuberger and E.L. Tatum)
North-Holland, Amsterdam/London, 8-57
- BRENDEL, W. (1981)
Nierensteinzertrümmerung mit Stoßwellen.
Umschau 81, 100-103
- BRENDEL, W. (1984)
Stoßwellen, ein neues therapeutisches Prinzip der Medizin.
Münch. Med. Wschr. 126, 1-4
- BROWN, G.M. (1971)
The biosynthesis of pteridines.
Advan. Enzymol. 35, 35-77
- CHAUSSY, C., W. BRENDEL and E. SCHMIEDT (1980)
Extracorporeally induced destruction of kidney stones by shock waves.
Lancet 2, 1265
- CONRAD, F., D. FUCHS, A. HAUSEN, G. REIBNECKER, E. BODNER und H. WACHTER (1984)
Neopterin als Marker bei chirurgischen Tumorpatienten.
Österr. Gesellschaften für Biochemie und Klinische Chemie, Bd. 365, 907
- CRAINE, J.E., E.S. HALL and S. KAUFMAN (1972)
The isolation and characterization of dihydropteridine reductase from sheep liver.
J. Biol. Chem. 247, 6082-6091
- CURTIS, H.Ch., A. NIEDERWIESER, M. VISCONTINI, A. OTTEN, J. SCHAUB, S. SCHEIBENREITER and H. SCHMIDT (1979)
Atypical phenylketonuria due to tetrahydrobiopterin deficiency. Diagnosis and treatment with tetrahydrobiopterin, dihydrobiopterin and sepiapterin.
Clin. Chim. Acta 93, 251-262

- CURTIUS, H.Ch., H. MÜLDNER and A. NIEDERWIESER (1982)
Tetrahydrobiopterin: Efficacy in endogenous depression and Parkinson's disease.
J. Neural, Transm. 55, 301-308
- CURTIUS, H.Ch., D. HEINTEL, S. GHISLA, TH. KUSTER, W.L. RIMBACH and A. NIEDERWIESER (1985)
Tetrahydrobiopterin biosynthesis.
Eur. J. Biochem. 148, 413-419
- DAHME, E. und E. WEISS (1983)
Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, S.283, 451-452
- DEWEY, V.C. and G.W. KIDDER (1971)
Assay of unconjugated pteridines.
In: Methods in Enzymology, Vol 18B
(Eds.: D.B. McCormick and L.D. Wright)
Academic, New York/London, 618-624
- DHONDT, J.L., J.M. HAYTE, G. FORZY and M.DEICROIX (1986)
Developmental aspects of biopterin metabolism in human.
In: Chemistry and Biology of Pteridines
(Eds.: B. A. Cooper and V.M. Whitehead)
Walter de Gruyter & Co. Berlin/New York, 219-222
- DUCH, D.S., C.-L. LEE, M. EDELSTEIN and C.A. NICHOL (1983)
Biosynthesis of tetrahydrobiopterin in the presence of dihydrofolate reductase inhibitors.
Mol. Pharmacol. 24, 103-108
- DUCH, D.S., S.W. BRODERS, J.H. WOOLF and C.A. NICHOL (1984)
Biopterin cofactor biosynthesis: GTP-cyclohydrolase, neopterin and biopterin in tissues and body fluids of mammalian species.
Life Sciences 35, 1895-1901
- DUCH, D. S., S.W. BOWERS and C.A. NICHOL (1986)
Role of the pituitary in the regulation of tetrahydrobiopterin in non neuronal tissues.
In: Chemistry and Biology of Pteridines
(Eds.: Cooper, B. A. and V.M. Whitehead)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 239-242
- EDWARDS, P. (1987)
The in vivo effects of L-dopa, phenelzine and starvation on tetrahydrobiopterin metabolism in the rat
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 5
(Eds.: W. Pfleiderer, H. Wachter, J.A. Blair)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 118-128

- FINK, M., U. JEHN, W. WILMANN, H. ROKOS and I. ZIEGLER (1983)
Neopterin in plasma and urine and biopterin in blood
fractions after bone marrow transplantations.
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 2
(Eds.: H.Ch. Curtius, W. Pfeleiderer and H. Wachter)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 223-234
- FINK, M., V. NÜSSLER, K. DEMTRÖDER, E. HÖNIGES and M. GOLDBERG
(1987)
Effects of pirenzepine, aciclovir and trimethoprim on
pterins in blood cells and plasma.
In: Unconjugated Pterins and Related Biogenic Amines
(Eds.: H.Ch. Curtius, N. Blau)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 207-216
- FORREST, H.S., E. GLASSMAN and H.K. MITCHELL (1956)
Conversion of 2-amino-4-hydroxypteridine to isoxanthopterin
in *D. Melanogaster*.
Science 124, 725-726
- FRESE, K. (1978)
Verlaufsuntersuchungen bei Melanomen der Haut und der
Mundschleimhaut des Hundes.
Vet. Pathol. 15: 461-473
- FRICK, J., W. AULITZKY, D. FUCHS, A. HAUSEN, H. JOOS,
G. REIBNEGGER and H. WACHTER (1985)
The value of urinary neopterin as an immunological parameter
in patients with malignant tumor of the genitourinary tract.
Urol. Int. 40, 155-159
- FUCHS, D., A. HAUSEN, C. HUBER, R. MARGREITER, G. REIBNEGGER, M.
SPIELBERGER and H. WACHTER (1982)
Pteridinausscheidung als Marker für alloantigen-induzierte
Lymphozytenproliferation.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 363, 661-664
- FUCHS, D., A. HAUSEN, O. KNOSP, G. REIBNEGGER and H. WACHTER
(1983)
Neopterin evaluation in patients suffering from pulmonary
tuberculosis.
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 2
(Eds.: H.Ch. Curtius, W. Pfeleiderer and H. Wachter)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 281-291
- FUCHS, D., A. HAUSEN, C. HUBER, G. REIBNEGGER and H. WACHTER
(1984a)
Urinary neopterin in the diagnosis and follow-up of
neoplasia: a biochemical parameter to detect cell-mediated
immune response.
Tumor Biology 5, 199-209

- FUCHS, D., A. HAUSEN, A. HINTERHUBER, N. KATHKA, H. KRAHNKE, G. REIBNEGGER, H. RÖSSLER, T.J. SPIRA, H. WINAZZER und H. WACHTER (1984b)
Neopterin als Marker für die Paralyse des zellulären Immunsystems in AIDS-Risikogruppen.
Österr. Gesellschaften für Biochemie und Klinische Chemie, Bd. 365, 912
- FUCHS, D., A. HAUSEN, G. REIBNEGGER, H. WACHTER, H. HETZEL, A. BICHLER and L. FUITH (1984c)
Die prognostische Bedeutung der Neopterinbestimmung bei Patientinnen mit Genitalkarzinomen.
Österr. Gesellschaften für Biochemie und Klinische Chemie, Bd. 365, 920
- FUKUSHIMA, T. and T. SHIOTA (1972)
Pterins in human urine.
J. Biol. Chem. 247, 4549-4556
- FUKUSHIMA, K., J. ETO, T. MAYUMI, W. RICHTER, S. GOODSON and T. SHIOTA (1975)
Biosynthesis of pterins in mammalian systems.
In: Chemistry and Biology of Pteridines
(Ed. W. Pfeleiderer)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 247-263
- FUKUSHIMA, T. (1980)
Isolation and preparation of pterins from biological materials.
In: Methods in Enzymology, Vol. 66
(Eds.: D.B. Mc Cormic and L.D. Wright)
Academic, New York, 508-511
- FUKUSHIMA, T. and J.C. NIXON (1980)
Analysis of reduced forms of biopterin in biological tissues and fluids.
Anal. Biochem. 102, 176-188
- FULLER, R.C. and N.A. NUGENT (1969)
Pteridins and a function of photosynthetic reaction center.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 63, 1311-1318
- GASSNER, F. (1987)
Untersuchung und Vergleich der Pteridinmuster im Harn von Hund und Katze sowie deren Veränderung bei verschiedenen Neoplasien und Virusinfektionen.
Med. Vet. Diss. München
- GOLDBERG, D.M. and D.BROWN (1987)
Biochemical tests in the diagnosis, classification, and management of patients with malignant lymphoma and leukemia.
Clin. Chim. Acta 169, 1-76

- GOLDBERG, M., F. GASSNER and M. MERKENSCHLAGER (1987)
Altered Urinary Excretion of Pteridines in Dogs with
Various Tumours.
J. Vet. Med. A. 34, 481-486
- GOLDBERG, M., F. GASSNER and M. MERKENSCHLAGER (1988)
Urinary Pteridine Patterns in Dogs and Cats and their
Alteration in Neoplasias and Virus Infections.
Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem., in Druck
- GOLDBERG, M., J. NAUMANN, J. WITTMANN and M. MERKENSCHLAGER (1988)
Pteridines in the Developing Chick Embryo.
Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem., in Druck
- GOTO, M., H.S. FORREST, L.H. DICKERMAN and J. URUSHIBARA (1965)
Isolation of a new naturally occurring pteridine from
bacteria, and its relation to folic acid biosynthesis.
Arch. Biochem. Biophys. 111, 8-14
- GRÜNEWALD, K., H. HUBER, D. FUCHS, A. HAUSEN, G. REIBNEGGER and
H. WACHTER (1982)
Neopterin estimations in benign and malignant hematological
disorders and their connections with tumor staging and
remissions.
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 1
(Eds.: H. Wachter, H.Ch. Curtius and W. Pfeleiderer)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 173-206
- GRUNDMANN, E. (1985)
Einführung in die Allgemeine Pathologie.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart/New York, 49-55
- GUROFF, G., C.A. RHOADS and A. ABRAMOWITZ (1967)
A simple radioisotope assay for phenylalanine hydroxylase
cofactor.
Anal. Biochem. 21, 273-278
- GYURE, W.L. (1972)
A proteine precipitant useful in pteridine and purine
analysis.
Anal. Biochem. 50, 309-312
- HÄBERLE, D.A., H. SCHIFFEL, G. MAYER, G. HENNINGS and
H. REMBOLD (1978)
Renal balance of pterin cofactors in the rat.
Pflüglers Arch. 375, 9-16
- HÄUSLER, E., KIEFER, W. (1973)
Berührungsfreie Zerstörung fester Einschlüsse in flüssiger
Umgebung.
Verhdlg. der Deutschen Physikalischen Gesellschaft 6, 692

- HALPERN, R.M. HALPERN and R.A. SMITH (1978)
Folate and pterin metabolism by cancer cells in culture.
Cancer Research 38, 2378-2384
- HAMA, T. and M. OBIKA (1960)
Pterin synthesis in the amphibian neural crest cells.
Nature 187, 326-327
- HASLER, TH. and A. NIEDERWIESER (1986)
Tetrahydrobiopterin producing enzyme activities in liver of animals and man.
In: Chemistry and Biology of Pteridines
(Eds.: Cooper, B. A. and V.M. Whitehead)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 319-322
- HAUG, P. (1970)
Mass spectral fragmentation of trimethylsilyl derivatives of 2-amino-4-hydroxypteridines.
Anal. Biochem. 37, 285-292
- HAUSEN, A., D. FUCHS, K. GRÜNEWALD, H. HUBER, K. KÖNIG and H. WACHTER (1981)
Urinary neopterin as marker for haematological neoplasias.
Clin. Chim. Acta 117, 297-305
- HAUSEN, A., D. FUCHS, K. KÖNIG and H. WACHTER (1982)
Determination of neopterin in human urine by reversed-phase high performance liquid chromatography.
J. of Chromatography 227, 61-70
- HAUSEN, A., D. FUCHS, G. REIBNEGGER, H. WACHTER, D. EGG and R. GÜNTHER (1983)
Neopterin as index for activity of disease in patients with rheumatoid arthritis.
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 2
(Eds.: H.Ch. Curtius, W. Pfeleiderer and H. Wachter)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 245-254
- HAUSEN, A., D. FUCHS, H. LUTZ, G. REIBNEGGER, E.R. WERNER and H. WACHTER (1985)
Interpretation of the variable neopterin excretion in patients with different tumour types - a hypothesis.
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 4
(Eds.: A. Wachter, H.Ch. Curtius and H. Wachter)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 487-500
- HOPKINS, F.G. (1889)
Chemical Society: Societies and Academies.
Nature 40, 335
- HOPKINS, F.G. (1891)
Pigment in yellow butterflies.
Nature 45, 197-198

HOPKINS, F.G. (1895)

III. The pigments of the pieridae. A contribution to the study of excretory substances which function in ornament. Proc. Soc. London 57, 5-6

HOPKINS, F.G. (1895)

XV. The pigments of the pieridae. A contribution to the study of excretory substances which function in ornament. Phil. Trans. Soc. London, Ser. B. 186, 661-682

HUBER, C., D. FUCHS, A. HAUSEN, R. MARGREITER, G. REIBNEGGER, M. SPIELBERGER and H. WACHTER (1983)

Pteridines as a new marker to detect human T-cells activated by allogenic or modified self major histocompatibility complex (MHC) determinance. J. Immunol. 130, 1047-1050

HUBER, C., J.R. BATCHELOR, D. FUCHS, A. HAUSEN, A. LANG, D. NIEDERWIESER, G. REIBNEGGER, P. SWETLEY, J. TROPFMAIR and H. WACHTER (1984)

Immun response-associated production of neopterin. J. Exp. Med. 160, 310-316

HUBER, C, J. TROPFMAIR, H. ROKOS und H.Ch. CURTIUS (1987)

Neopterin heute. Georg Thieme Verlag, Stuttgart/New York
Dtsch. med. Wschr. 112, 107-113

IOACHIM, H.L. (1976)

The Stromal Reaction of Tumors: An Expression of Immune Surveillance
J. Natl. Cancer Inst. 57, No. 3; 465-470

JACKSON, R.C. and G. WEBER (1975)

IMP dehydrogenase, an enzyme linked with proliferations and malignancy. Nature 256, 331-333

JAFFE, M. (1886)

Über den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaktion des Kreatinins. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 10, 391-400

JOEST, E. (1985)

Handbuch der speziellen Pathologischen Anatomie der Haustiere, Band IV,
(Eds.: J.Doberstein, G. Pallaske, H. Stünzi)
Verlag Paul Parey, Berlin/Hamburg, 39-42

JOHN, A., M.D. MEYER and T. RUDOLF (1982)

Canine Osteogenetic Sarcoma Treated by Amputation and MER Cancer 42, No. 8, 1613-1616

- JUBB, K.V.F., P.C.KENNEDY and N. PALMER (1985)
Pathology of Domestic Animals, Vol. 3
Academic Press, Inc. Orlando/New York, 390-395
- KAUFMAN, S. AND D. B. FISHER (1962)
Pteridin-requiring amnioacid hydroxylasis.
In: Oxygenases, (Ed. O. Hayaishi)
Academic Press, New York 285-370
- KAUFMAN, S. (1963)
The structure of phenylalanine hydroxylation cofactor.
Proc. Natl. Acad. Sci. 50, 1085-1093
- KAUFMAN, S., N.A. HOLTZMAN, S. MILSTIEN, I.J. BUTLER and A. KRUMHOLZ (1975)
Phenylketonuria due to a deficiency of dihydropterine reductase.
N. Engl. J. Med. 293, 785-790
- KAUFMANN, S., G. KAPATOS, W. B. RIZZO, J. D. SCHULMAN, L. TAMARKIN and G. R. VAN LOON (1983)
Tetrahydrobiopterin therapy of hyperphenylalaninaemia due to defective synthesis of tetrahydrobiopterin.
Ann. Neurol. 14, 308-315
- KERN, P., H. ROKOS AND M. DIETRICH (1984)
Raise in serum neopterin levels and imbalances of T-lymphocyte subsets in viral diseases.
Biomed. Pharmacotherapy 38, 407-411
- KOKOLIS, N. and I. ZIEGLER (1968)
Wiedererscheinen von Tetrahydrobiopterin in der Regenerationsknospe von Triturus-Arten.
Zeitschr. f. Naturf. 23b, 860-865
- KOKOLIS, N. and I. ZIEGLER (1977)
On the levels of phenylalanine, tyrosine and tetrahydrobiopterin in the blood of tumor-bearing organisms.
Cancer Biochem. Biophys. 2, 79-85
- KOLLER, M. (1988)
Veränderung des Pteridinmusters im Rattenurin bei Änderung von Haltungsbedingungen.
Med. Vet. Diss. München, in Vorbereitung
- KOSTRON-KRAINZ, C., D. FUCHS, A. HAUSEN, G. REIBNEGGER and H. WACHTER (1982)
Urinary neopterin evaluation in malignant diseases in childhood.
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 1 (Eds.: H. Wachter, H.Ch. Curtius and W. Pfeleiderer)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 157-171

- KRAML, F., D. KUMMER and K. SCHMIDT (1976)
Separation and quantitative determination of ribonucleoside and desoxyribonucleoside triphosphates in human malignant tumors.
Anal. Biochem. 71, 500-506
- KRIVI, G.G. and G.M. BROWN (1979)
Purification and properties of the enzymes from *Drosophila melanogaster*, that catalyze the synthesis of sepiapterin from dihydroneopterintriphosphat.
Biochem. Genet. 17, 371-390
- LAGOWSKI, J.M. and H.S. FORREST (1967)
Interaction in vitro between isoxanthopterin and DNA.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 58, 1541-1547
- LEEMING, R.J., J.A. BLAIR, A. GREEN and D.N. RAINE (1976)
Biopterin derivatives in normal and phenylketonuric patients after oral loads of L-phenylalanin, L-tyrosin and L-tryptophan.
Arch. Dis. Child. 51, 771-777
- LOVENBERG, W., R.A. LEVINE, D.S. ROBINSON, M. EBERT, A.C. WILLIAMS and D.B. CAHNE (1979)
Hydroxylase cofactor activity in cerebrospinal fluid of normal subjects and patients with Parkinson's disease.
Science, 204, 624-626
- LOWE, D., J. JORIZZO and M. HUTT (1981)
Tumour-associated eosinophilia: a review.
J. Clin. Pathol. 34; 1343-1348
- MAKAROV, A.D. and L.F. STAKHOV (1972)
Chemical nature and certain features of the physiological cofactor of phosphorylation and phosphodoxin.
Biophysika 17, 396-400
- MILSTIEN, S. and S. KAUMAN (1986)
The biosynthesis of tetrahydrobiopterin in rat brain.
In: Chemistry and Biology of Pteridines (Eds.: B.A. Cooper and V.M. Whitehead)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 169-181
- MURPHY, JB, W. NAKAHARA and E. STURM (1921)
Studies on lymphoid activity.
J. Exp. Med. 33, 423-428
- MOMZIKOFF, A. (1973)
Identification de la riboflavine et de l'isoxanthoptérine parmi les substances fluorescentes d'*ascidiella aspersa*.
Arch. Zool. Exp. Gen. 114, 603-610

- NAGATSU, T., M. LEVITT and S. UDENFRIEND (1964)
Tyrosine hydroxylase (the initial step in norepinephrine biosynthesis).
J. Biol. Chem. 239, 2910-2917
- NAUMANN, J. (1987)
Über den Verlauf des Pteridinmusters beim Hühnerembryo und dessen Beeinflussung durch Thioharnstoff, L-Thyroxin und Cycloheximid.
Med. Vet. Diss. München
- NICHOL, C.A., G.K. SMITH and D.S. DUCH (1985)
Biosynthesis and metabolism of tetrahydrobiopterin and molybdopterin.
Ann. Rev. Biochem. 54, 729-764
- NIEDERWIESER, A., H.Ch. CURTIUS, O. BETTONI, J. BIERI, B. SCHIRCKS, M. VISCONTINI and J. SCHAUB (1979)
Atypical phenylketonuria caused by 7,8-dihydrobiopterin synthetase deficiency.
Lancet 1, 131-133
- NIEDERWIESER, A., H. Ch. CURTIUS and R. GITZELMANN (1980)
Excretion of pterin in phenylketonuria and phenylketonuria variants.
Helv. Paediatr. Acta 35, 335-342
- NIEDERWIESER, D., C. HUBER, A. GRATWOHL, PL BANNERT, D. FUCHS, A. HAUSEN, G. REIBNEGGER, B. SPECK and H. WACHTER (1984)
Neopterin as a new biochemical marker in the clinical monitoring of bone marrow transplant recipients.
Transplantation 38, 497-500
- NIEDERWIESER, A., D. FUCHS, A. HAUSEN, G. JUDMAIER, G. REIBNEGGER, H. WACHTER and C. HUBER (1985)
Neopterin as a new biochemical marker in the clinical assessment of ulcerative colitis.
Immunobiol. 170, 320-326
- NOLTENIUS, H. (1987)
Tumor-Handbuch, Pathologie und Klinik der menschlichen Tumoren, Bd. 1, 2. Auflage,
Urban & Schwarzenberg, München/Wien, Bd.1, 22-31
- NORMANN, S.J., M. SCHAROTT and E. SORKIN (1979)
Cancer progression and monocyte inflammatory dysfunction:Relationship to tumour excision and metastasis.
Int. J. Cancer 23, 110-113
- ODA, T., B. ENDRICH, A. GOETZ und K. MESSMER (1982)
Gefäßveränderungen während des Tumorstadiums.
Fortschr. Med. 100, 1887-1930

- PFLEGER, R.C., C. PIANTADOSI and F. SNYDER (1967)
The biocleavage of some glyceryl ethers by soluble liver
enzymes in a variety of species.
Biochem. Biophys. Acta 144, 633-648
- PFLEIDERER, W. (1964)
Neuere Methoden der präparativen organischen Chemie, IV.
In: Angewandte Chemie
Int. Engl. Ed. 3, 113-156
- PHEASANT, A.E. (1986)
Diurnal variation in urinary pterin excretion in man
In: Chemistry and Biology of Pteridines
(Eds.: B.A. Cooper and V.M. Whitehead)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 267-270
- PRIOR, C., D. FUCHE, A. HAUSEN, C. HUBER, G. JUDMEIER, D.
NIEDERWIESER, G. REIBNEGGER und H. WACHTER (1984)
Die Rolle des Neopterin in der Aktivitätsbeurteilung der
Colitis ulcerosa.
Österr. Gesellschaften für Biochemie und Klinische Chemie,
Bd. 365, 940
- PURRMAN, R. (1940)
Über die Flügelpigmente der Schmetterlinge, VII.
Liebigs Ann. Chem. 544, 182-190
- PURRMAN, R. (1940)
Die Synthese des Xanthopterins.
Liebigs Ann. Chem. 546, 98-102
- PURRMAN, R. (1941)
Konstitution und Synthese des Anhydroleukopterins.
Liebigs Ann. Chem. 548, 284-292
- RAO, G.N., S. TREHAN and J.M. NORONHA (1981)
Elevated urinary levels of 6-hydroxymethylpterin during
malignancy and liver regeneration: a simple, noninvasive
test for cancer detection.
Cancer 48, 1656-1663
- RAO, G.N. and E. COTLIER (1985)
Biosynthesis of neopterin, sepiapterin and biopterin in rat
and human ocular tissues.
Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 26, 768-770
- REMBOLD, H. and W. GUTENSOHN (1968)
6-hydroxylation of the pteridine ring by xanthine oxidase.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 31, 837-841
- REMBOLD, H., H. METZGER, P. SUDERSHAN and W. GUTENSOHN (1969a)
Catabolism of pteridine cofactors (I).
Biochem. Biophys. Acta 184, 386-396

- REMBOLD, H. and F. SIMMERBACH (1969b)
Catabolism of pteridine cofactors (II).
Biochem. Biophys. Acta 184, 589-596
- REMBOLD, H. and G. HEINZ (1971)
L-threo-neopterin, the major pterin in Escherichia coli B.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 352, 1271-1272
- REMBOLD, H., H. METZGER and W. GUTENSOHN (1971)
Catabolism of pteridine cofactors. III. On the introduction
of an oxygen function into position 6 of the pteridine ring.
Biochem. Biophys. Acta 230, 117-126
- REMBOLD, H. und B. L. GUYRE (1972)
Biochemie der Pteridine.
Angew. Chem. 84, 1088-1099
- ROKOS, H., K. ROKOS, H. FRISIUS and H.J. KIRSTÄDTER (1980)
Altered urinary excretion of pteridines in neoplastic
disease. Determination of biopterin, neopterin, xanthopterin
and pterin.
Clin. Chim. Acta 105, 275-286
- ROKOS, H. and K. ROKOS (1983)
A radioimmunoassay for determination of D-erythro-neopterin.
In: Chemistry and Biology of Pteridines
(Ed.: J.A. BLAIR)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 815-519
- ROKOS, H., K. ROKOS, H. FRISIUS and M. HÜFNER (1983)
Pteridines in Cancer and other diseases.
In: Chemistry and Biology of Pteridines
(Ed.: J.A. BLAIR)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 153-157
- ROKOS, H. and K. ROKOS (1985)
Determination of Neopterin and Reduced Neopterins by
Radioimmunoassay.
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 4
(Eds.: Pfeleiderer, W. H. Wachter, J.A. Blair)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 116-128
- ROKOS, H., G. BIENHAUS and R. KUNZE (1985)
Neopterin in serum of mammals?
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 4
(Eds.: Pfeleiderer, W. H. Wachter, J.A. Blair)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 313-318
- ROKOS, H. (1987)
Serum Neopterin Levels In Various Physiological Conditions;
Comparison With Animal Models.
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 5
(Eds.: Pfeleiderer, W. H. Wachter, J.A. Blair)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 222-229

- ROKOS, K. und R.O.F. KUNZE (1987)
Variations of Neopterin, Dihydroneopterin and Immunological Parameters during physical exercise (Jogging).
In.: Unconjugated Pterins and Related Biogenic Amines (Eds.: H.Ch. Curtius, N. Blau, R.A. Levine)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 287-196
- SACHS, L. (1984)
Angewandte Statistik.
6. Auflage, Springer Verlag, Berlin/Heidelberg/New York
- SANCHEZ-URRETIA, L., C.E. PIERCE and O. GREENGARD (1978)
Dihydropteridine reductase activity of adult, fetal and neoplastic tissues.
Enzyme 23, 346-352
- SANDERSLEBEN, J.von, K. DÄMMRICH und E. DAHME (1981)
Pathologische Histologie der Haustiere.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1981), S. 21, 65,
- SCHMUTZHARD, E., D. FUCHS, A. HAUSEN, G. REIBNEGGER und H. WACHTER (1984a)
Neopterinausscheidung im Harn von Leprapatienten.
Österr. Gesellschaften für Biochemie und Klinische Chemie, Bd. 365, 946
- SCHMUTZHARD, E., D. FUCHS, A. HAUSEN, H. LUTZ, G. REIBNEGGER und H. WACHTER (1984b)
Neopterinausscheidung bei Malaria.
Österr. Gesellschaften für Biochemie und Klinische Chemie, Bd. 365, 946
- SCHÖPF, C. und E. BECKER (1936)
Über neue Pteridine.
Liebigs Ann. Chem. 524, 49-123
- SCHÖPF, C. und R. REICHERT (1941)
Zur Kenntnis des Leukopterins.
Liebigs Ann. Chem. 548, 82-94
- SCHÖPF, C. und H. WIELAND (1926)
Über das Leukopterin, das weiße Flügelpigment der Kohlweißlinge.
Ber. Deut. Chem. Ges. 59, 2067-2072
- SEGAL-EIRAS, A., R.A. ROBINS, D. HANNANT, L.N. OWEN and R.W. BALDWIN (1982)
Circulating Immune Complexes in Dogs with Osteosarcoma.
Br. J. Cancer 46, 444-446
- SMALL, E.D., P. KOKA and J. LEE (1980)
Lumazine protein from the bioluminescent bacterium Photobacterium phosphorum.
J. biol. chemistry 255, 8804-8810

- SMITH, G.K. and C.A. NICHOL (1984)
Two new tetrahydropterin intermediates in the adrenal medullary de novo biosynthesis of tetrahydrobiopterin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 120, 761-766
- SMITH, I., K. HYLAND, B. KENDALL and R. LEEMING (1985)
Clinical role of pteridine therapy in tetrahydrobiopterin deficiency.
J. Inher. Metab. Dis. 8, Suppl. 1, 39-45
- SMITH, G.K., D.S. DUCH and C.A. NICHOL (1986)
The biosynthesis of tetrahydrobiopterin in the bovine adrenal medulla.
In: *Chemistry and Biology of Pteridines*
(Eds.: B.A. Cooper and V.M. Whitehead)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 151-168
- SNYDERMAN, R., H.F. SEIGLER and L. MEADOWS (1977)
Abnormalities of monocyte chemotaxis in patients with melanoma: Effects of immunotherapy and tumor removal.
J. Natl. Cancer Inst. 58, 37-41
- SNYDERMAN, R., L. MEADOWS, W. HOLDER and S. WELLS (1978)
Abnormal monocyte chemotaxis in patients with breast cancer: Evidence for a tumor-mediated effect.
J. Natl. Cancer Inst. 60, 737-740
- STEA, B., P.S. BACKLUND, jr., P.B. BERKEY, A.K. CHO, B.C. HALPERN, R.M. HALPERN and R.A. SMITH (1978)
Folate and pterin metabolism by cancer cells in culture.
Cancer Research 38, 2378-2384
- STEA, B., R.M. HALPERN, B.C. HALPERN and R.A. SMITH (1980)
Quantitative determination of pterins in biological fluids by high performance liquid chromatography.
J. of Chromatography 188, 363-375
- STEA, B., R.M. HALPERN, B.C. HALPERN and R.A. SMITH (1981)
Urinary excretion levels of unconjugated pterins in cancer patients and normal individuals.
Clin. Chim. Acta 133, 231-242
- STÜNZI, H. und E. WEISS (1982)
Allgemeine Pathologie (7. Auflage)
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, S. 261, 295, 322, 358-362
- TIETZ, A., M. LINDBERG and E.P. KENNEDY (1964)
A new pteridine requiring enzyme system for the oxidation of glyceryl-ethers.
J. Biol. Chem. 239, 4081-4090

- TREHAN, S., D.N. RAO, P.A. SHETTY and J.M. NORONHA (1982)
Urinary 6-hydroxymethylpterin levels accurately monitor response to chemotherapy in acute myeloblastic leukemia. *Cancer* 50, 114-117
- TROPFMAIR, J., A. LANG, C. HUBER, G. SCHOEDON, A. NIEDERWIESER and G. ADOLF (1985)
Intracellular changes in pterin releasing peripheral blood mononuclear cells after stimulation with interferon-gamma. In: *Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines*, Vol. 4 (Eds.: H. Wachter, H.Ch. Curtius and W. Pfeleiderer) Walter de Gruyter, Berlin/New York, 363-368
- TSUJITA, M. and S. SAKURAI (1963)
The association of a specific protein with yellow pigments (dihydropterin) in silkworm, *bombyx mori*. *Japan J. Geret.* 38, 97-105
- VIVEROS, O.H., M.M. ABOU-DONIA, J.C. NIXON and C.A. NICHOL (1981)
Bioppterin cofactor biosynthesis independent regulation of GTP-cyclohydrolase in adrenal medulla and cortex. *Science* 213, 349-350
- WACHTER, H., K. GRASSMAYR and A. HAUSEN (1979)
Enhanced urinary excretion of 7,8-dihydro-6-hydroxylumazine by mice bearing the Ehrlich-ascites tumor. *Cancer Lett.* 6, 61-66
- WACHTER, H., A. HAUSEN und K. GRASSMAYR (1979)
Erhöhte Ausscheidung von Neopterin im Harn von Patienten mit malignen Tumoren und Viruserkrankungen. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 360, 1957-1960
- WACHTER, H., A. HAUSEN, E. REIDER and M. SCHWEIGER (1980)
Pteridine excretion from cells as indicator of cell proliferation. *Naturwissenschaften* 67, 610-611
- WACHTER, H., D. FUCHS, A. HAUSEN and G. REIBNEGGER (1982)
Importance of pteridines for regulation of growth. In: *Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines*, Vol. 1 (Eds.: H. Wachter, H.Ch. Curtius and W. Pfeleiderer) Walter de Gruyter, Berlin/New York, 277-281
- WATSON, B.M., P. SCHLESINGER and R.G.H. COTTON (1978)
Dihydroxanthopterinuria in phenylketonuria and lethal hyperphenylalaninemia patients. *Clin. Chim. Acta* 78, 417-423
- WATT, W.B. and S.R. BOWDEN (1966)
Chemical phenotypes of pteridine colour forms in pieris butterflies. *Nature* 210, 304-306

- WIELAND, H., H. METZGER, C. SCHÖPF und M. BÜLOW (1933)
Über Leukopterin, das Flügelpigment der Kohlweißlinge
(Pieriden), II.
Liebigs Ann. Chem. 507, 226-265
- WIELAND, H., R. PURRMANN (1939)
Über die Flügelpigmente der Schmetterlinge, IV.
Liebigs Ann. Chem. 539, 179-187
- WIELAND, H. und SCHÖPF (1925)
Über den gelben Flügelfarbstoff des Citronenfalters
(Gonepteryx rhamni).
Ber. Dent. Chem. Ges. 58, 2178-2183
- WILLIAMS, J.C., H. KIZAKI, G. WEBER and H.P. MORRIS (1978)
Increased CTP synthetase activity in cancer cells.
Nature 271, 71-73
- WOLF, J., E. MUSCH, H. NEUSS und U. KLEHR (1987)
Neopterin im Serum und Urin zur Differentialdiagnose von
Nierenfunktionsstörungen nach Nierentransplantation.
Klin. Wochenschr. 65, 225-231
- WOLOSZCZUK, W., J. TROPPEMAIR, E. LEITER, R. FLENER, M. SCHWARZ,
J. KOVARIK, E. POHANKA, R. MARGREITER und CH. HUBER (1986)
Relationship of interferon-gamma and neopterin levels during
stimulation with alloantigens in vivo and in vitro.
Transplantation 41, 716-720
- ZEITLER, H.-J. and B. ANDONDONSKAJA-RENN (1985)
Pteridine levels in patients with AIDS (acquired
immunodeficiency syndrome) and with Kaposi's sarkoma.
In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, Vol. 4
(Eds.: H. Wachter, H.Ch. Curtius and W. Pfeleiderer)
Walter de Gruyter, Berlin/New York, 593-605
- ZIEGLER, I. (1960)
Tetrahydrobiopterin-Derivat als lichtempfindliche Verbindung
bei Amphibien und Insekten.
Z. Naturf. 15b, 460-465
- ZIEGLER, I. (1965)
Pteridine als Wirkstoffe und Pigmente.
Ergeb. Physiol. Biol. Chem. exp. Pharmakol. 56, 1-66
- ZIEGLER, I., M. FINK and W. WILMANN (1982a)
Biopterin level in peripheral blood cells as a marker for
hemopoietic cell proliferation during leukemia and
polycythemia vera.
Blut 44, 231-240

- ZIEGLER, I., H.J. KOLB, U. BODENBERGER and W. WILMANN (1982b)
Biopterin level in peripheral blood cells as a marker for
hemopoietic cell proliferation during autologous bone marrow
transplantation in beagle dogs.
Blut 44, 261-270
- ZIEGLER, I., K. HAMM and J. BERNDT (1983)
Participation of pterins in the control of lymphocyte
stimulation and lymphoblast proliferation.
Cancer Res. 43, 5356-5359
- ZIEGLER, I. (1985)
Pteridine formation during lectin-induced lymphocyte activation.
J. Cell. Biochem. 28, 197-206
- ZIEGLER, I. (1987)
Production of pteridines by T-cells and macrophages-modulator
function in interleukin 2 signal transmission.
In: Lymphokines 14, 177-201
(Ed.: E. Pick)
Academic Press, New York
- ZIEGLER, I. and H. ROKOS (1986)
Pteridines and the immune response.
EOS Rivista di Immunologia ed Immunofarmacologia 6, 169-177
- ZHENGRON, X. (1986)
Morphologische Charakteristik und Intensität von
Stoßwellenschäden der Niere des Hundes.
Med. Diss. München

LEBENS LAUF

Ludwig Joh. Singer
Staatsangehörigkeit
Familienstand

geb. am 18.05.1960 in Memmingen
deutsch
verheiratet

Eltern

Ludwig Singer, selbst. KFZ-Meister
Anneliese Singer, Hausfrau

Schulische Ausbildung:

Sept. 1966 - Juli 1971
Sept. 1971 - Juli 1980

Grundschule in Attenhausen
Maristenkolleg Mindelheim
Abschluß: Allg. Hochschulreife

Berufliche Ausbildung:

Nov. 1980 - Okt. 1981

Studium HLB Landwirtschaft an der
TU München

Nov, 1981 - Dez. 1986

Studium der Tiermedizin an der
LMU München

Approbation

18.03.1987

Promotion

Jan. 1987 - April 1988 Doktorand am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tiermedizinischen Fakultät München

WORTE DES DANKES

Für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes, für die Überlassung des Themas und die jederzeit gewährte freundliche Unterstützung bei der Anfertigung der vorliegenden Arbeit danke ich Herrn Prof. Dr. M. Merckenschlager.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. rer. nat. M. Goldberg für die Einführung in das Arbeitsgebiet und seine hervorragende Betreuung und Hilfsbereitschaft.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. W. Brendel, Direktor des Instituts für Chirurgische Forschung Großhadern, und Herrn Dr. M. Delius möchte ich sehr herzlich für die Überlassung von Proben und Daten, sowie der stets freundlichen Hilfsbereitschaft danken.

Ferner bedanke ich mich bei Frau Prof. Dr. U. Matis und allen Mitarbeitern der Chirurgischen Tierklinik für die freundliche Unterstützung und Überlassung von Probenmaterial.

Mein Dank gilt auch Herrn Rupprecht von der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung Neuherberg für die freundliche Überlassung von Probenmaterial.

Frau U. Seeliger und Frau M. Koller, meiner Mitdoktorandin, danke ich für die gute Zusammenarbeit und liebenswürdige Unterstützung bei der technischen Durchführung.

